



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE LÚPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO E DOENÇA  
PERIODONTAL: UMA ABORDAGEM  
BIOINFORMÁTICA**

Trabalho submetido por  
**Ana Paula Ribeiro Borges**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**outubro de 2021**





**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE LÚPUS  
ERITEMATOSO SISTÊMICO E DOENÇA  
PERIODONTAL: UMA ABORDAGEM  
BIOINFORMÁTICA**

Trabalho submetido por  
**Ana Paula Ribeiro Borges**  
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**PROFA. DOUTORA MARIA ALEXANDRA GIL FIGUEIREDO**  
Trabalho coorientado por  
**PROF. PAULO MASCARENHAS**  
**PROF. DOUTOR PAULO JOÃO MAURÍCIO**

**outubro de 2021**



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

A orientadora Prof Dra. Alexandra Figueiredo ao co-orientador Prof Dr. Paulo Mascarenhas e ao Prof. Dr. Paulo João Maurício pela oportunidade de me orientar na conclusão deste trabalho.

A minha mãe, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, seu corpo docente, direção e administração, por me proporcionar essa formação.

E aos meus amigos que direta ou indiretamente fizeram parte dessa realização, meu muito obrigado.



## RESUMO

**Introdução:** A doença periodontal é uma doença inflamatória que afeta os tecidos de sustentação dos dentes e pode sofrer influencia imunológica e pode também estar relacionada com fatores de risco genéticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar através da randomização mendeliana e rede de interação proteica a associação de causa-efeito entre o lúpus eritematoso sistêmico e a doença periodontal.

**Metodologia:** Foi utilizada a plataforma MrBase para realização da randomização mendeliana. A pesquisa inicial dos dados populacionais disponíveis foi feita a partir do banco de dados Catálogo do Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano – Instituto Europeu de Bioinformática de Estudos da Associação do Genoma Humano, e foi realizada por fenótipo, usando como termos de busca *systemic lupus erythematosus* para exposição e *periodontal disease* para desfecho. Para análise da rede de interação proteína-proteína, foi utilizado a ferramenta STRING, onde foram geradas as redes de interação a partir dos dados dos genes envolvidos na doença periodontal e lúpus eritematoso sistêmico, identificados na base de dados.

**Resultados:** A randomização mendeliana encontrou um efeito positivo fraco, porém sem significância estatística na relação entre o Lúpus Eritematoso Sistêmico e a doença periodontal, MR Egger (B 0.271 SE= 0.157  $p= 0.098$ ). A análise da rede de interação proteína-proteína mostrou haver mais interações que o esperado para o conjunto de genes analisados. Algumas das interações identificados foram a proteína RUNX2 interagindo com PSMB6 e as proteínas IGF2R e PLG apresentando interação com PLAUR, enquanto ANGPT1 teve interação com GRB2 e PLD2.

**Conclusão:** A randomização mendeliana demonstrou que pode existir uma associação fraca entre o lúpus eritematoso sistêmico e a doença periodontal, sem apresentar significância estatística. A análise da rede de interação demonstrou haver proteínas de ambas as condições que interagem, interação essa superior ao que seria esperado. Essas proteínas devem ser alvo de mais estudos a fim de ser possível avaliar melhor a relação entre a doença periodontal e o lúpus eritematoso sistêmico.

**Palavras-Chave:** Doença periodontal; Lúpus eritematoso sistêmico; Randomização mendeliana; Rede de interação proteína-proteína





## ABSTRACT

**Introduction:** Periodontal disease is an inflammatory disease that affects the supporting tissues of teeth and may be immunologically influenced and may also be related to genetic risk factors. The aim of this study was to evaluate, through Mendelian randomization and a protein interaction network, the association, including cause-effect, between systemic lupus erythematosus and periodontal disease.

**Methods:** The MrBase app was used to analyze Mendelian randomization using data available from the Catalog of the National Institute for Human Genome Research – European Institute for Bioinformatics and Studies of the Human Genome Association, which was performed by phenotype using systemic lupus erythematosus as search terms for exposure and periodontal disease for result. For analysis of the protein-protein interaction network, the STRING tool was used, where the interaction networks were generated from the data of genes involved in periodontal disease and allergic disease identified in the database.

**Results:** Mendelian randomization found a weak positive effect, but without statistical significance in the relationship between Systemic Lupus Erythematosus and periodontal disease, MR Egger (B 0.271 SE= 0.157 p= 0.098). The analysis of the protein-protein interaction network showed that there were more interactions than expected for the set of genes analyzed. With RUNX2 protein interacting with PSMB6 and IGF2R and PLG proteins interacting with PLAUR, while ANGPT1 interacted with GRB2 and PLD2.

**Conclusion:** Mendelian randomization demonstrated that there may be a weak association between systemic lupus erythematosus and periodontal disease, without showing statistical significance. The analysis of the interaction network showed that there are proteins from both conditions that interact, which interaction is superior to what would be expected. These proteins should be further studied in order to better assess the relationship between periodontal disease and systemic lupus erythematosus.

**Keywords:** Periodontal disease; Systemic lupus erythematosus; Mendelian randomization; Protein-protein interaction network



# ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>  | <b>7</b>  |
| <b>ÍNDICE DE TABELAS</b>  | <b>9</b>  |
| <b>LISTA DE SIGLAS</b>  | <b>11</b> |
| <b>1- INTRODUÇÃO</b>  | <b>13</b> |
| 1.1 DOENÇA PERIODONTAL  | 13        |
| 1.2 FISIOPATOLOGIA E INFLUÊNCIA DA GENÉTICA NA DOENÇA PERIODONTAL             | 13        |
| 1.3 RELAÇÃO ENTRE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO E PROBLEMAS ORAIS               | 16        |
| 1.4 FISIOPATOLOGIA DO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO                             | 17        |
| <b>2- OBJETIVOS</b>   | <b>21</b> |
| <b>3- METODOLOGIA</b>   | <b>23</b> |
| 3.1 RANDOMIZAÇÃO MENDELIANA   | 23        |
| 3.2 DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS INSTRUMENTAIS                                     | 23        |
| 3.3 TESTES DE FORÇA DO INSTRUMENTO  | 24        |
| 3.4 ANÁLISE DOS DADOS   | 25        |
| 3.5 REDE DE INTERAÇÃO DE PROTEÍNAS  | 26        |
| <b>4- RESULTADOS</b>  | <b>29</b> |
| 4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO   | 29        |
| 4.2 ANÁLISE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA                                    | 36        |
| <b>5- DISCUSSÃO</b>   | <b>41</b> |
| 5.1 CORRELAÇÃO ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO         | 41        |
| 5.2 INTERAÇÃO PROTEICA ENTRE DOENÇA PERIODONTAL E LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO | 41        |
| 5.3 LIMITAÇÕES E PERSPETIVAS FUTURAS  | 42        |
| <b>6- CONCLUSÃO</b>   | <b>45</b> |
| <b>7- BIBLIOGRAFIA</b>  | <b>47</b> |
| <b>8- ANEXOS</b>  |           |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1:Esquema da patogénese do lúpus eritematoso sistémico.....   | 20 |
| Figura 2: Gráfico acíclico definindo a relação entre a variável instrumental, fator de risco, desfecho e fatores de confusão. ....   | 24 |
| Figura 3: Resultados dos testes de randomização mendeliana, apresentando efeito causal. ....   | 32 |
| Figura 4: Resultados dos testes de randomização mendeliana, apresentando análise de sensibilidade. ....  | 33 |
| Figura 5: Resultados dos testes de randomização mendeliana, Na forma de regressão. ....  | 34 |
| Figura 6: A análise da ferramenta de pesquisa para recuperação de genes / proteínas em interação (STRING) revela redes de interação de proteínas entre o lúpus eritematoso sistémico e as proteínas da doença periodontal. Implementamos o maior corte de confiança de 0,9 nesta rede. Na rede de associação de proteínas resultante, as proteínas são apresentadas como nós que são conectados por linhas cuja espessura representa o nível de confiança (0,9)..... | 38 |
| Figura 7: Rede de interação de proteínas mostrando as interações encontradas entre as proteínas do lúpus eritematoso sistémico e da doença periodontal. ....   | 39 |



## ÍNDICE DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1: Dataset usado como variável de resultado associado a doença periodontal. ..   | 30 |
| Tabela 2: Resultados obtidos busca na base de dados GWAS .....  | 30 |
| Tabela 3: esta Tabela mostra as estimativas da randomização mendeliana de cada método do efeito causal da exposição (Lúpus Eritematoso Sistémico) sobre o resultado (doença periodontal)..... | 35 |
| Tabela 4: Resultados do teste de heterogeneidade calculado usando o método MR Egger e Variância inversa ponderada (Lúpus Eritematoso Sistémico) versus (Doença periodontal).....              | 35 |
| Tabela 5: A intercetação da regressão de Egger é uma estimativa da magnitude da pleiotropia horizontal, entre os SNP associados ao (Lúpus Eritematoso Sistémico) e doença periodontal. ....   | 36 |
| Tabela 6: Resultados da pontuação entre (Lúpus Eritematoso Sistémico) com as proteínas relacionadas à doença periodontal identificadas na interação da rede.....                              | 37 |





## LISTA DE SIGLAS

|          |  |
|----------|--|
| B        | Beta                                   |
| DP       | Doença periodontal                     |
| IC       | Intervalo de confiança                 |
| IgG      | Imunoglobulina G                       |
| IL       | Interleucina                           |
| IVW      | Inverse Weighted Variance              |
| LES      | Lúpus eritematoso sistêmico            |
| PPI      | Redes de interação proteína – proteína |
| pval     | Valor do teste                         |
| RM       | Randomização mendeliana                |
| Se ou SE | Desvio padrão                          |
| SNP      | Single Nucleotide Polymorfism          |
| TNF-a    | Tumor necrosis factor alpha            |
| VI       | Variável instrumental                  |



# 1- INTRODUÇÃO

## 1.1 Doença periodontal

A doença periodontal é definida como a doença inflamatória que afeta os tecidos de sustentação dos dentes. Essa condição é causada por microrganismos específicos ou grupos de microrganismos específicos, associados ao biofilme dental. A presença desses micro-organismos é caracterizada por uma intensa infiltração de leucócitos em resposta aos produtos libertados por esses microrganismos, resultando numa destruição progressiva do ligamento periodontal e osso alveolar com formação de bolsa, recessão ou ambos. A doença periodontal ocorre em resposta a uma infecção bacteriana predominantemente gram-negativa originada da placa dentária. No entanto, a doença geralmente permanece assintomática por décadas e pode ser detetada apenas por exame clínico com uma sonda periodontal ou com radiografias intraorais (Bansal et al., 2014; Calderaro et al., 2017; Marques et al., 2016).

## 1.2 Fisiopatologia e influência da genética na doença periodontal

A forte influência da modulação imunológica observada na doença periodontal é induzida por lipopolissacarídeos de bactérias Gram-negativas que causam lesões imunológicas nos tecidos periodontais, dependendo da resposta linfocítica. Esta doença pode aparecer em formas mais graves com a presença de lesões destrutivas que, por sua vez, são dependentes das respostas imunes sistêmicas e mucosas que estão envolvidas nos processos da doença e determinam a gravidade da inflamação (Marques et al., 2016).

A doença periodontal é iniciada por microrganismos no biofilme subgengival, e por fatores de risco do estilo de vida, e também as doenças sistêmicas desempenham um papel na modificação desta doença. A doença periodontal pode ser modificada por fatores genéticos e também pela interação gene-gene e gene-ambiente (fatores epigenéticos) (Genco & Borgnakke, 2013)

Estudos de agregação familiar sugerem que a doença periodontal de início precoce ou agressiva é herdada como um traço autossômico dominante em famílias negras (Marazita et al., 1994).

A agregação familiar de doença periodontal agressiva é frequentemente muito alta entre certas famílias, com a percentagem de irmãos e outros familiares afetados atingindo 40-50%, sugerindo que fatores genéticos podem ser importantes na suscetibilidade à doença periodontal agressiva. Na verdade, foi proposto que os subtipos de doença periodontal agressiva sejam herdados de maneira mendeliana como características ligadas ao X dominante, autossômica recessiva ou autossômica dominante; no entanto, isso é controverso. Deve-se ressaltar que é comumente relatado que a causa subjacente da doença periodontal agressiva localizada está relacionada à disfunção leucocitária em certas raças, e a base dessa disfunção pode ser genética (Genco & Borgnakke, 2013).

No seio de uma família, quando os pais apresentam uma má saúde periodontal, os filhos tendem a ter uma saúde periodontal igualmente má. Assim, a história familiar é uma representação válida de fatores genéticos e ambientais compartilhados que contribuem para o estado periodontal de um indivíduo. No entanto, não é possível distinguir entre os fatores genéticos e ambientais (Shearer et al., 2011). Outras análises sugerem que a doença periodontal em adultos tem uma componente genética familiar preponderante o que explica a sua concentração em determinadas famílias. Novamente, não há indicação clara da importância relativa dos fatores ambientais compartilhados em comparação com os fatores genéticos que podem ser operativos nessas famílias (Genco & Borgnakke, 2013).

Na sua maioria, os estudos de polimorfismo genético não foram capazes de distinguir entre a doença periodontal crônica e a doença periodontal agressiva. No entanto, os pacientes com doença periodontal agressiva mostram uma associação positiva com o antígeno leucocitário humano A9 e uma associação negativa com o antígeno leucocitário humano A2 e o antígeno leucocitário humano A5. É bem possível que fatores genéticos possam distinguir a doença periodontal agressiva da doença periodontal crônica; no entanto, há evidências limitadas para essa distinção (Genco & Borgnakke, 2013; Stabholz et al., 2010; Stein et al., 2008).

Frequentemente, as associações encontradas são restritas a grupos raciais ou étnicos específicos. No geral, as evidências apontam para polimorfismos nos genes interleucina-1, interleucina-6, interleucina-10, receptor de vitamina D e CD-14 como tendo um papel na doença periodontal crônica, mas a maioria acha que essas associações são restritas para certas populações. Eles concluem que ainda não existe um polimorfismo genético que

tenha sido definitivamente demonstrado ser um fator de risco para suscetibilidade à doença periodontal crônica numa amostra representativa da população (Genco & Borgnakke, 2013; Stabholz et al., 2010).

Evidências crescentes sugerem que o resultado clínico das doenças periodontais pode ser influenciado, pelo menos em parte, por fatores de risco determinados geneticamente. Entre eles, os genótipos da interleucina (IL-1) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) têm sido de particular interesse. Essas citocinas estimulam muitas células a produzir metaloproteinase, prostaglandinas e citocinas pró-inflamatórias, além de afetar o metabolismo ósseo (Ebersole & Cappelli, 2000; Marques et al., 2016; Stein et al., 2008), e contribuir para a patogênese da doença periodontal. Acredita-se que a IL-10 também desempenhe um papel na doença periodontal ao diminuir a produção de monócitos (Marques et al., 2016; Yamazaki et al., 2001).

Esses dados sugerem que os mecanismos de controlo suprimem a produção excessiva de citocinas inflamatórias, que poderiam afetar a resposta inflamatória na doença periodontal, resultando em diferentes manifestações clínicas. O gene que codifica IL-10 foi mapeado no cromossoma 1, e identificaram-se 3 polimorfismos bialélicos dentro da região promotora de IL-10, nas posições 1082, 819 e 592 do sítio de iniciação da transcrição. O primeiro polimorfismo, na posição 1082, constitui uma substituição de guanina (G) por adenina (A), o segundo é uma substituição de citosina (C) por timina (T) e o terceiro é uma substituição de C por A (Stabholz et al., 2010; Stein et al., 2008; Yamazaki et al., 2001).

O polimorfismo na posição 1082 mostrou afetar a produção *in vitro* de IL-10 no sangue periférico de indivíduos saudáveis. No entanto, a presença de associação entre polimorfismos do gene da IL-10 e manifestações clínicas de doenças inflamatórias crônicas é controversa. Foi demonstrado que um genótipo com alta produção de IL-10 pode ser importante no desenvolvimento de certas características do lúpus eritematoso sistêmico (Yamazaki et al., 2001).

O promotor do gene IL-10 parece não ser um forte determinante da suscetibilidade ao desenvolvimento de doença periodontal em indivíduos japoneses (Yamazaki et al., 2001).

### **1.3 Relação entre lúpus eritematoso sistêmico e problemas orais**

A doença periodontal inflamatória surge em resposta à placa bacteriana. Essa resposta, entretanto, pode ser modificada por fatores sistêmicos, como deficiência nutricional, desequilíbrio hormonal ou doença sistêmica grave. Uma doença sistêmica que pode modificar a resposta do hospedeiro a fatores etiológicos locais é o lúpus eritematoso sistêmico (Abrão et al., 2016; Aurlene et al., 2020; Mutlu et al., 1993; Vogel, 1981). Pacientes com lúpus eritematoso sistêmico e com doença ativa apresentaram pior estado de saúde oral com aumento da ocorrência de cárie dentária e mau estado periodontal, com bolsas periodontais mais profundas. Lesões orais também ocorreram mais comumente em pacientes com doença ativa do que em pacientes com doença inativa (Abrão et al., 2016; Aurlene et al., 2020; Hammoudeh et al., 2018).

Estima-se que cerca de 3% da população sofre de um determinado tipo de doença reumática inflamatória crônica em que uma fracção apresenta manifestações orais, que é muitas vezes o primeiro sinal ou sintoma clínico da doença (Abrão et al., 2016; Gualtierotti et al., 2018; Hammoudeh et al., 2018).

O lúpus eritematoso sistêmico é uma condição sistêmica relacionada à medicina dentária em extensão variável, devido às suas implicações nas diferentes estruturas orais. Aproximadamente 45% dos pacientes apresentam lesões orais com áreas eritematosas, muitas vezes acompanhadas de edema e petéquias (Aurlene et al., 2020; Novo et al., 1999). Existem dados muito limitados sobre o estado periodontal do lúpus eritematoso sistêmico (Gualtierotti et al., 2018; Mutlu et al., 1993).

Uma série de lesões orais associadas com lúpus eritematoso sistêmico foram relatados. Estes incluem uma alta prevalência de xerostomia, mucosite, ulcerações eritematosas, glossite, queilite angular, ulceração da mucosa, disfunção da articulação temporomandibular e aumento da incidência de cárie dentária e doença periodontal (Abrão et al., 2016; Gualtierotti et al., 2018). Calcificação do canal radicular, erupção retardada dos dentes primários e permanentes e formação da raiz torcida, podem ocorrer devido ao tratamento com corticoides e não uma complicação do lúpus eritematoso sistêmico (Aurlene et al., 2020; Gualtierotti et al., 2018; Mutlu et al., 1993).

A síndrome antifosfolipídica está presente em cerca de 30 a 40% dos pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, embora existam indivíduos com a forma primária de síndrome

antifosfolipídica que não têm lúpus eritematoso sistêmico. A patogênese da síndrome antifosfolipídica está relacionada à atividade protrombótica de alguns anticorpos antifosfolipídios (Levine et al., 2002; Marques et al., 2016; Schenkein et al., 2003, 2007). Entre os principais grupos de anticorpos detetados em pacientes com síndrome antifosfolipídica estão o de  $\beta$ 2-glicoproteína I dependente anticardiolipina (anti-CL), anti- $\beta$ 2-glicoproteína I (anti- $\beta$ 2GPI) e anticoagulante lúpico (LA) (Schenkein et al., 2003, 2007). Pacientes com doença periodontal generalizada produzem anticorpos anti-CL elevados durante o curso da infecção periodontal crônica. Esses anticorpos em níveis moderados, mas anormais, podem ser patogênicos e participar da indução das sequelas sistêmicas da doença periodontal (Marques et al., 2016; Schenkein et al., 2003), com marcadores sistêmicos de inflamação vascular em pacientes com doença periodontal agressiva associados a níveis elevados de anti-CL (Schenkein et al., 2007).

A doença periodontal parece desenvolver-se mais cedo em pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico, sendo por isso importantes avaliações periódicas do médico dentista, com ênfase na avaliação do estado periodontal destes pacientes (Calderaro et al., 2017).

#### **1.4 Fisiopatologia do Lúpus Eritematoso Sistêmico**

O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença autoimune caracterizada pela produção de autoanticorpos IgG específicos para autoantigénio, como DNA, proteínas nucleares e determinados componentes citoplasmáticos, em associação a uma ampla gama de manifestações clínicas. Os achados patológicos primários em pacientes são os de inflamação, vasculite, deposição de imunocomplexos e vasculopatia. Os imunocomplexos compreendendo autoanticorpo e autoantigénio são depositados particularmente nos glomérulos renais e medeiam uma resposta inflamatória sistêmica pela ativação do complemento ou mediados por neutrófilos e ativação de macrófagos. A ativação do complemento (C5) leva à lesão tanto pela formação do complexo de ataque à membrana (C5b-9) quanto pela geração da anafilotoxina e do ativador celular C5a. Neutrófilos e macrófagos causam lesão tecidual pela liberação de oxidantes e proteases, conforme é possível visualizar na figura 1 (Vogel, 1981).

A prevalência de lúpus eritematoso sistêmico, em geral, é alta quando comparada com outras doenças autoimunes, afetando mais comumente mulheres, predominantemente

mulheres em idade reprodutiva. A proporção entre homens e mulheres para a incidência de lúpus eritematoso sistêmico é de 1: 9 (Aurlene et al., 2020; Marques et al., 2016).

O lúpus eritematoso sistêmico é uma doença autoimune crônica que afeta o tecido conjuntivo e múltiplos órgãos, apresentando-se clinicamente de forma heterogênea em que a presença de autoanticorpos contra antígenos nucleares é uma característica definidora da doença (Aurlene et al., 2020; Marques et al., 2016). As anormalidades imunológicas incluem hiperatividade de linfócitos B, resultando em aumento da síntese de imunoglobulina e deposição de autoanticorpos na borda da derme e epiderme. Foi sugerido que células T supressoras, ausentes ou reduzidas, são um fator primário na patogênese do lúpus eritematoso sistêmico (Aurlene et al., 2020; Mutlu et al., 1993). A depressão da produção de trombócitos é muito raramente associada ao lúpus eritematoso sistêmico (Vogel, 1981).

A terapêutica do lúpus Eritematoso Sistêmico permite o controle dos níveis de IFN- $\alpha$ , um fator de risco hereditário que é um dos fatores na patogênese do lúpus eritematoso sistêmico (Gualtierotti et al., 2018; Novo et al., 1999).

Estudos de genes candidatos a estarem relacionados ao lúpus eritematoso sistêmico e, mais recentemente, estudos de associação do genoma (GWAS), começaram a elucidar a complexa arquitetura genética do lúpus eritematoso sistêmico com a identificação de mais de 90 *loci* de risco. Esses estudos estabeleceram coletivamente a importância de várias vias no lúpus eritematoso sistêmico, incluindo respostas imunes inatas, ativação de linfócitos e eliminação de complexos imunes. No entanto, além do grande número de novos *loci* que foram identificados como contribuintes para a patogênese do lúpus eritematoso sistêmico, eles coletivamente não explicam todo o risco contribuído por fatores hereditários (Goulielmos et al., 2018).

Análises genéticas e transcricionais de todo o genoma revelaram papéis potenciais para muitos fatores diferentes. Essa compreensão da doença começa a dar frutos para o desenvolvimento da terapêutica para o lúpus eritematoso sistêmico. A desregulação das citocinas provavelmente desempenha um papel na perda da tolerância imunológica que leva a danos resultantes da doença. O excesso de expressão genética em resposta ao interferon alfa foi identificado como uma marca registrada de muitos casos de lúpus. IL-10 e IL-21 são citocinas que apresentam expressão aumentada e que regulam o



desenvolvimento e a tolerância dos linfócitos. Outra citocina, a IL-17, é desregulada no lúpus eritematoso sistêmico, aumentando a patogênese da doença. Essas e outras citocinas pró-inflamatórias provavelmente não apenas contribuíram para a perda de tolerância e os sintomas associados ao lúpus eritematoso sistêmico, mas também aceleram a aterosclerose em pacientes com lúpus. Outras citocinas, como a IL-2, são subexpressas no lúpus eritematoso sistêmico, com efeitos prejudiciais na tolerância imunológica e no desenvolvimento de células T reguladoras (Goulielmos et al., 2018; Gualtierotti et al., 2018; Novo et al., 1999).

Os anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos são um tipo de autoanticorpo dirigido contra as enzimas localizadas nos grânulos primários dos leucócitos polimorfonucleares e nos lisossomas dos monócitos. Eles foram descritos pela primeira vez em 1982 em pacientes com glomerulonefrite necrotizante (Gualtierotti et al., 2018; Novo et al., 1999; Schnabel et al., 1995). Desde então, os anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos foram detetados em uma ampla gama de condições inflamatórias, infecciosas e neoplásicas, e são atualmente usados como um marcador sensível e específico para a granulomatose de Wegener, poliarterite microscópica e a forma idiopática de glomerulonefrite necrosante auto-imune (Novo et al., 1999; Schnabel et al., 1995). A formação de bolsas, sangramento, perda óssea e mobilidade dentária são características clínicas usuais frequentemente associadas a condições sistêmicas em que o comprometimento de neutrófilos está geralmente presente; por exemplo, esclerodermia, síndrome de Papillon-Lefèvre, síndrome de Down e *diabetes mellitus*. Uma relação pode ser encontrada entre anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos e doença periodontal (Gualtierotti et al., 2018; Novo et al., 1999).

Assim, a estreita associação entre anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos e doença periodontal, permite especular sobre a possibilidade de utilização de anticorpos citoplasmáticos anti-neutrófilos como indicadores de doença periodontal no lúpus eritematoso sistêmico (figura 1) (Novo et al., 1999).

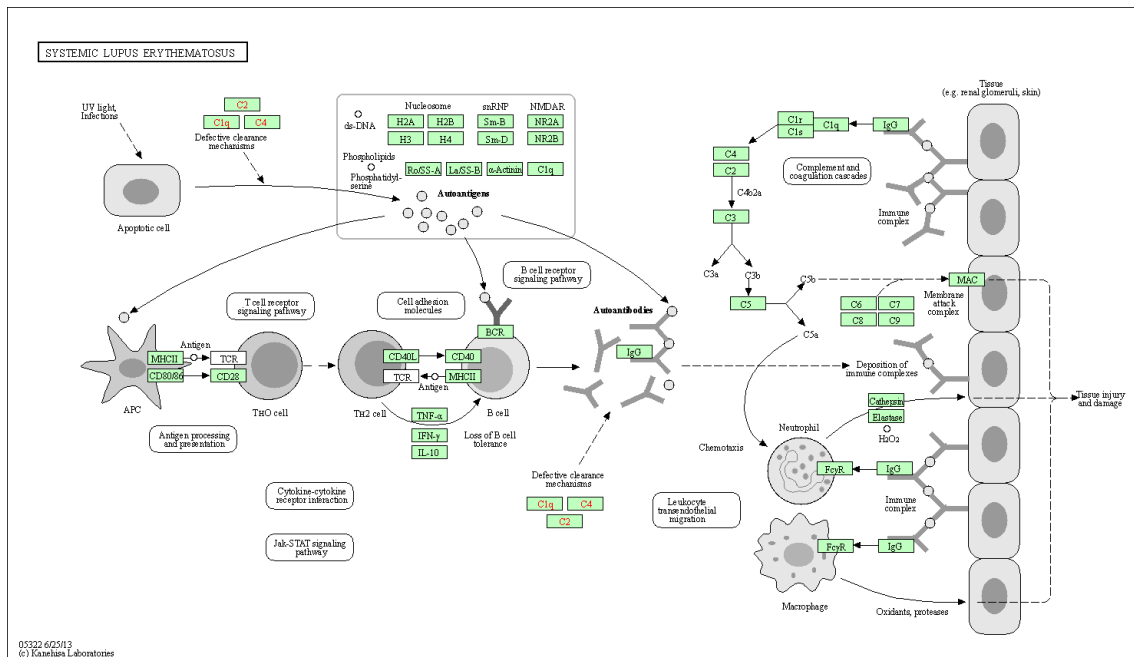


Figura 1:Esquema da patogênese do lúpus eritematoso sistêmico. ( Kanehisa Laboratories,1999 ).

A ligação causal entre a doença periodontal e o risco de lúpus eritematoso sistêmico é limitada em termos de evidências, com apenas estudos observacionais disponíveis. Para superar as limitações dos estudos observacionais, incluindo a falta de randomização, podemos seguir uma abordagem de randomização Mendeliana e rede de interação de proteínas, usando dados resumidos de estudos de associação do genoma (GWAS) para avaliação de causalidade em vias de exposição-desfecho.

## **2- OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho foi avaliar através da randomização mendeliana e rede de interação proteica a associação, incluindo de causa-efeito, entre o lúpus eritematoso sistêmico e a doença periodontal.



### **3- METODOLOGIA**

#### **3.1 Randomização mendeliana**

A randomização mendeliana baseia-se na utilização de variáveis instrumentais (VI) para a realização de inferências no campo da epidemiologia observacional, utilizando variantes genéticas representadas por polimorfismo de nucleótido único (SNP) como variáveis instrumentais (Bowden & Holmes, 2019; Burgess & Thompson, 2015; Trajanoska & Rivadeneira, 2018).

Os estudos de randomização mendeliana apresentam uma estrutura de delineamento semelhante aos ensaios clínicos randomizados, uma vez que as variantes genéticas são segregadas de forma randomizada de acordo com a segunda lei de Mendel. Os grupos são definidos pela utilização do alelo mais frequente ou do alelo variante do SNP, gerando grupos que não diferem entre si quanto aos fatores de confusão. Dessa maneira é possível eliminar fatores de confusão, causalidade reversa e diversos vieses que, muitas vezes, impossibilitam verificar se uma exposição de fato causa determinada doença (Bowden & Holmes, 2019; Burgess & Thompson, 2015; Goto et al., 2020; Trajanoska & Rivadeneira, 2018; VanderWeele et al., 2014).

A exposição biológica pode ter sua relação causal com desfechos clínicos de interesse avaliadas por meio da randomização mendeliana com a utilização de variantes genéticas como variáveis instrumentais (Bowden & Holmes, 2019; Goto et al., 2020).

#### **3.2 Definição das variáveis instrumentais**

Com base no gráfico acíclico definido na figura 2, foi identificado um conjunto de SNPs que atendessem aos pré-requisitos para ser utilizado como variável instrumental (estar associada ao fator de risco e não estar associada a fatores de confusão nem estar ligada diretamente ao desfecho a não ser através da variável exposição a ser utilizada nesse trabalho (Bowden & Holmes, 2019; Davies et al., 2018).

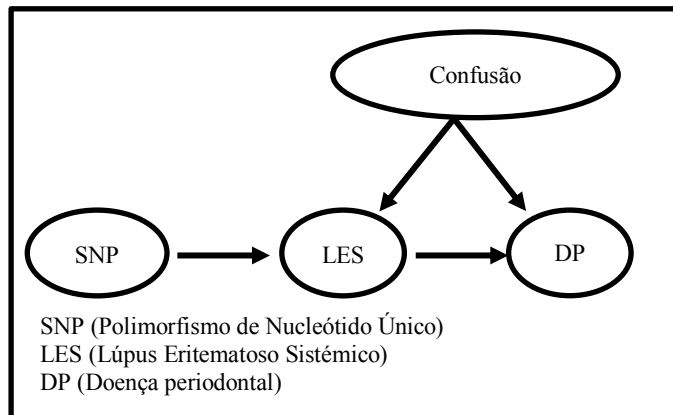


Figura 2: Gráfico acíclico definindo a relação entre a variável instrumental, fator de risco, desfecho e fatores de confusão.

Para a execução da randomização mendeliana foi utilizada a aplicação MRBase (app.mrbase.org) (Hemani et al., 2018), com o lúpus eritematoso sistêmico como exposição e a doença periodontal como desfecho. As variantes genéticas instrumentais foram selecionadas a partir do Catálogo do Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano – Instituto Europeu de Bioinformática de Estudos da Associação do Genoma Humano (NGHRI- EBI - GWAS) (Buniello et al., 2019). Para a exposição foram selecionados todos os SNPs associados a cada uma das buscas, que foi realizada por fenótipo usando como termos de busca para lúpus eritematoso sistêmico (*systemic lupus erythematosus*). Para o resultado foi pesquisado a doença periodontal com o seguinte termo de busca (*periodontal disease*).

### 3.3 Testes de força do instrumento

O poder de um estudo de randomização mendeliana é determinado pelo tamanho da amostra e força da associação entre o instrumento proposto e o fator de risco. Instrumentos fracos que preveem mal o fator de risco podem causar pouco poder estatístico para o teste de hipóteses, causando ampliação dos efeitos pleiotrópicos horizontais, diminuindo a precisão (Davies et al., 2018).

Para o teste da força da variável instrumental foi usada a estatística F, sendo considerada a variável como válida para valores maiores que 10. Exceder esse limiar indica que um resultado baseado numa variável instrumental válida não deve sofrer substancialmente de viés fraco do instrumento, mas não garante poder estatístico suficiente para testar uma hipótese específica (Davies et al., 2018).

### 3.4 Análise dos dados

Para analisar o nexo de causalidade foi usado o método de regressão por mínimos quadrados de dois estágios, este método permite estimar o efeito causal usando uma ou mais variáveis instrumentais (VI). O primeiro estágio consiste na regressão da variável considerando as VI (SNPs) como exposição, e o segundo estágio, na regressão de doença periodontal nos valores preditos de lúpus eritematoso sistémico, resultantes do primeiro estágio. A estimativa de efeito causal é o coeficiente de regressão do segundo estágio e pode ser interpretado como a mudança no desfecho causada pela mudança de uma unidade na exposição (Burgess & Thompson, 2015).

Considerando que existem  $k$  variantes genéticas  $G_1, G_2, \dots, G_k$ , um desfecho  $Y$  e uma exposição  $X$ , assim para os indivíduos indexados por  $i = 1, 2, \dots, N$ , o modelo de regressão do primeiro estágio especifica que:

$$x_i = \alpha_0 + \sum_{k=1}^K \alpha_{k \ g \ ik} + \varepsilon_{X_i}$$

As estimativas de  $\hat{x}_i = \hat{\alpha}_0 + \sum_{k=1}^K \hat{\alpha}_{k \ g \ ik}$  são então utilizadas no modelo de regressão segunda etapa definido por:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 \hat{x}_i + \varepsilon_{Y_i}$$

Os erros aleatórios  $\varepsilon_{X_i}$  e  $\varepsilon_{Y_i}$  são independentes e têm distribuição normal se ambos os modelos são estimados por mínimos quadrados em duas etapas sucessivas. O efeito causal que se deseja estimar é o coeficiente de regressão  $\beta_1$ . Os efeitos são considerados significativos quando temos um *pvalue*  $<0.05$  associado a  $\beta_1$ .

No anexo III temos os comandos R usados no MRBase (Hemani et al., 2018) para geração dos resultados da randomização mendeliana.

### 3.5 Rede de interação de proteínas

Para melhor entendimento da contribuição genética como fator de risco para desenvolvimento e evolução de doenças podemos lançar mãos da análise da interação de proteínas derivado de dados obtidos de modelos celulares e bioquímicos, constituindo assim as chamadas redes de interação proteínas-proteínas (PPI). As redes PPI podem ser uma ferramenta com uma abordagem que permite rapidamente e com baixo custo identificar potenciais interações entre genes envolvidos na doença periodontal e lúpus eritematoso sistêmico, e proteínas chave nestas interações.

Para análise da rede de interação de proteínas foram usados os genes associados aos SNPs usados na randomização mendeliana descritos nos anexos I e II, e também os genes associados a doença obtida do catálogo Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano – Instituto Europeu de Bioinformática de Estudos da Associação do Genoma Humano (NHGRI – GWAS) buscando por “*periodontal disease*”, descritos no anexo V (Buniello et al., 2019).

A rede de Interação de proteínas foi renderizada por meio do banco de dados STRING versão 11.5. Definimos o limite de confiança mais alto nesta análise de interação (de 0,9). Uma análise de sensibilidade com um corte de confiança de 0,7 foi conduzida, para investigar se os resultados são dependentes da escolha do ponto de corte de confiança. Na rede PPI resultante, as proteínas são apresentadas como nós que são conectados por linhas cujas espessura representa esse nível de confiança.

Para a análise de rede de interação de proteínas foi realizada uma primeira análise com todos os genes descritos nos anexos I, II e V. O resultado obtido utilizando um limite de confiança de 0,9 foram analisados e todas as proteínas de ambas as condições que



apresentaram interação foram novamente inseridas na base de dados para gerar a análise da rede de interação de proteínas, com um limite de confiança de 0,9.



## 4- RESULTADOS

### 4.1 População do estudo

Para a realização da randomização mendeliana foram usados dados sumarizados obtidos no MRC IEU Open GWAS (Elsworth et al., 2020). Na busca para o Lupus eritematoso sistêmico (exposição) foram encontrados 198 SNPs originados de seis estudos descritos na Tabela 1. Para o desfecho a busca por “*periodontal disease*” resultou em dois datasets, porém na análise da randomização mendeliana apenas os dados do *dataset* ebi-a-GCST003484 surtiram resultados. Os dados desse dataset foram retirados do estudo de (Offenbacher et al., 2016), envolveram uma população europeia, e estão representados na Tabela 1.

Na análise para a randomização mendeliana apenas 24 dos 198 SNPs descritos para lúpus eritematoso sistêmico, foram utilizados como variáveis instrumentais.

Esses SNPs estão listados na Tabela 2 e são descritos nos estudos de (Bentham et al., 2015; Cervino et al., 2007; Langefeld et al., 2017; Julià et al., 2018; Wang et al., 2021). Todos os estudos apresentaram dados para a população europeia, à exceção do estudo de (Wang et al., 2021) que apresentou dados para SNPs de ancestralidade chinesa.

A distribuição dos SNPs associados ao Lúpus eritematoso sistêmico foi avaliada no conjunto de polimorfismos presente na referência ebi-a-GCST003484 (Elsworth et al., 2020) do MRC IEU Open GWAS (Hom et al., 2008) (Tabela 2).

Os SNPs associado em cada um dos *datasets* encontram-se descritos nos anexos I e II respectivamente.

*Tabela 1: Dataset usado como variável de desfecho associado a doença periodontal.*

| Dataset          | Autor (ANO)                | População | Case | Controle | Tamanho amostra | Nº SNP  | unidade |
|------------------|----------------------------|-----------|------|----------|-----------------|---------|---------|
| ebi-a-GCST003484 | (Offenbacher et al., 2016) | Europa    | -    | -        | 975             | 2077804 | NA      |

*Tabela 2: Resultados da busca na base de dados GWAS por Lúpus Eritematoso Sistêmico.*

| Autor (ANO)              | ID estudo    | População                                     | SNPs associados |
|--------------------------|--------------|---|-----------------|
| (Julià et al., 2018)     | GCST005831   | 4,943 Casos de ancestralidade europeia        | 5               |
|                          |              | 8,483 Controles de ancestralidade europeia    |                 |
| (Langefeld et al., 2017) | GCST007400   | 6,748 Casos de ancestralidade europeia        | 71              |
|                          |              | 11,516 Controles de ancestralidade europeia   |                 |
| (Wang et al., 2021)      | GCST90011866 | 4,222 Casos de ancestralidade chinesa Han     | 22              |
|                          |              | 8,431 Controles de ancestralidade chinesa Han |                 |
| (Bentham et al., 2015)   | GCST003155   | 5,201 Casos de ancestralidade europeia        | 53              |
|                          |              | 9,066 Controles de ancestralidade europeia    |                 |
| (Bentham et al., 2015)   | GCST003156   | 5,201 Casos de ancestralidade europeia        | 47              |

|                        |            |  |   |
|------------------------|------------|--|---|
|                        |            | 9,066 Controles de ancestralidade europeia |   |
| (Cervino et al., 2007) | GCST000112 | 165 Casos de ancestralidade europeia       | 0 |

As estimativas de Randomização mendeliana estão descritas na Tabela 3. Usando 24 SNPs foi encontrado um efeito positivo fraco, porém sem significância estatística na relação entre o lúpus eritematoso sistêmico e a doença periodontal, MR Egger (B 0.271 SE= 0.157  $p= 0.098$  (figura 3 e 4).

Se os SNPs influenciam o resultado por meio de uma via diferente da exposição, isso é conhecido como pleiotropia horizontal e é uma violação da randomização mendeliana. Ambos os Datasets não apresentaram valores estatisticamente significativos para pleiotropia horizontal (ebi-a-GCST003156  $p = 0.172$ ), haja vista que a hipótese nula  $H_0 : \beta_0 = 0$  (o intercepto é nulo) não foi rejeitada ( $p = 0.172$ ) (Tabela 4).

A heterogeneidade calculada usando o método MR Egger e Variância inversa ponderada revelou pequena heterogeneidade MR Egger ( $Q = 46.51$   $p= 0.493$ ) Variância inversa ponderada ( $Q = 47.6$   $p= 0.489$ ) (Tabela 5 e figura 4 e 5).

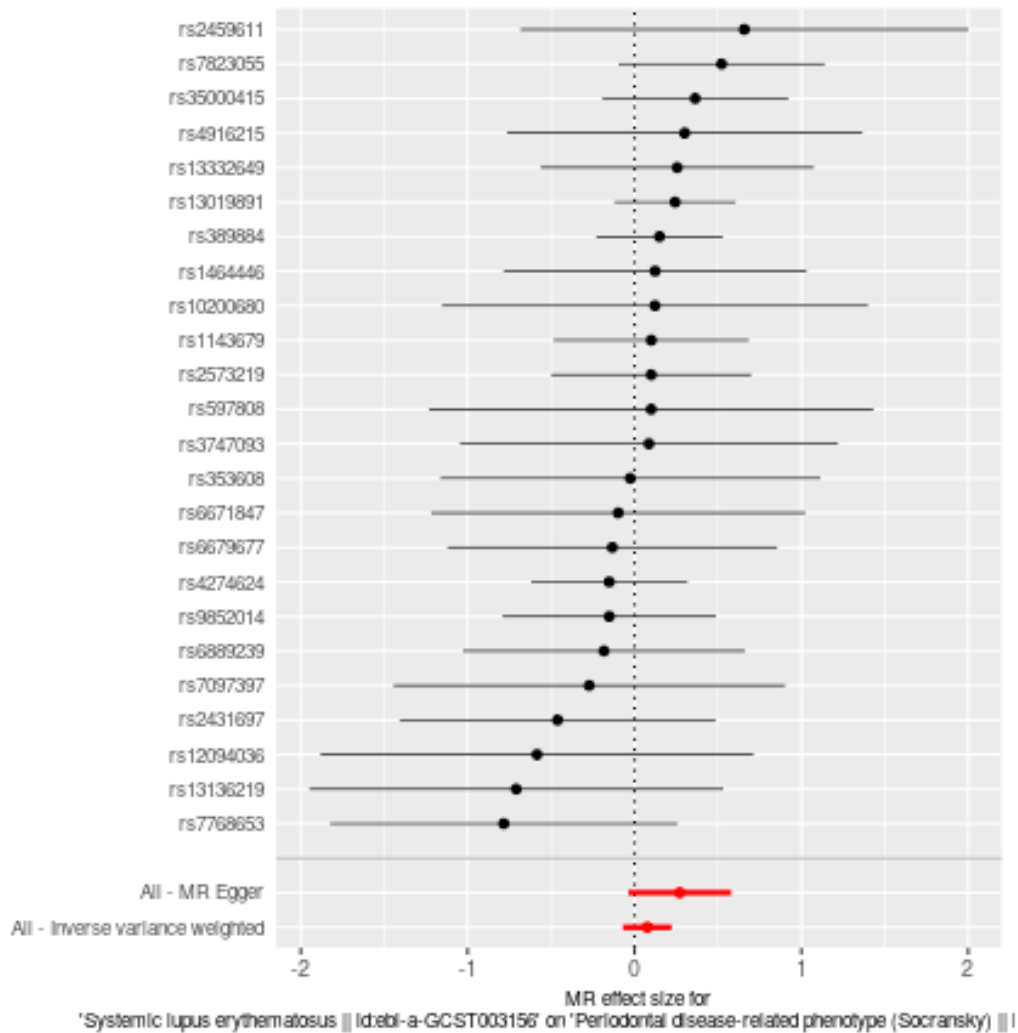


Figura 3: Resultados dos testes de randomização mendeliana, apresentando efeito causal.

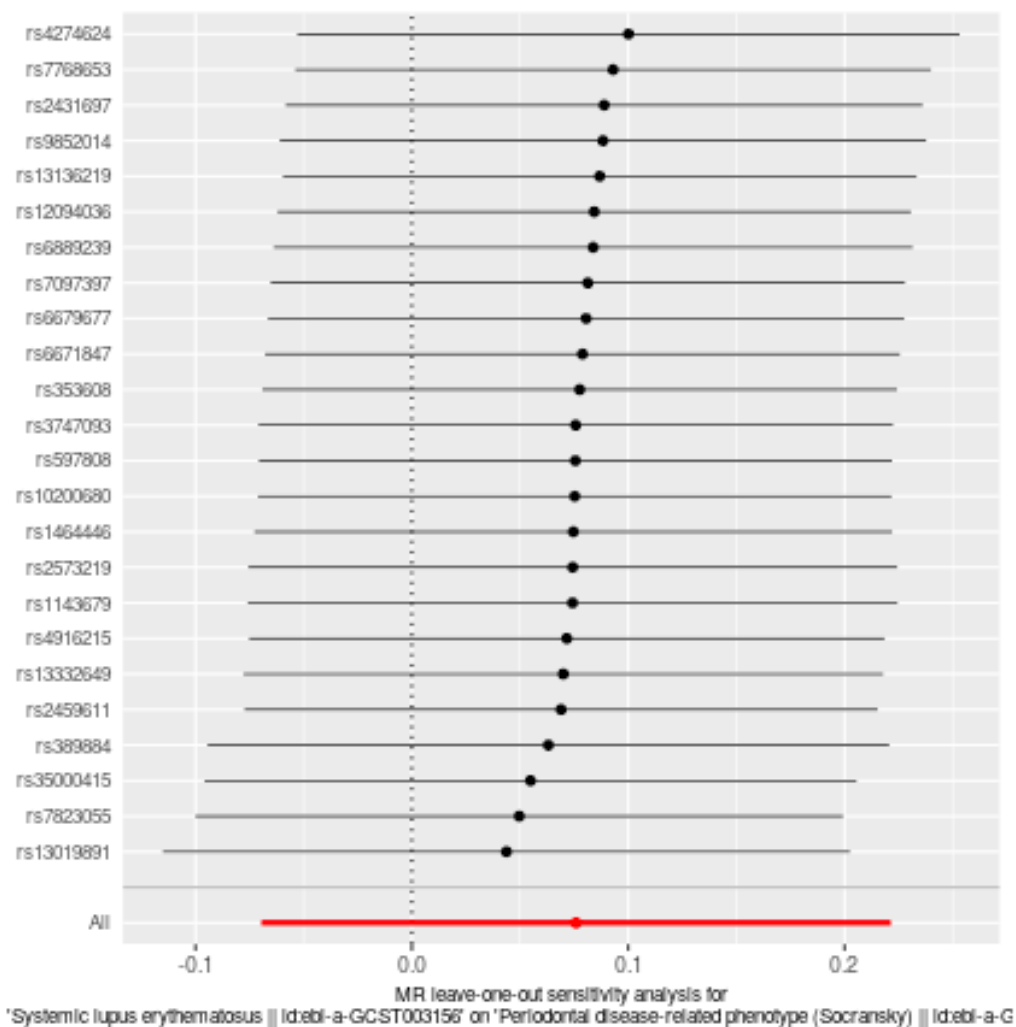


Figura 4: Resultados dos testes de randomização mendeliana, apresentando análise de sensibilidade.

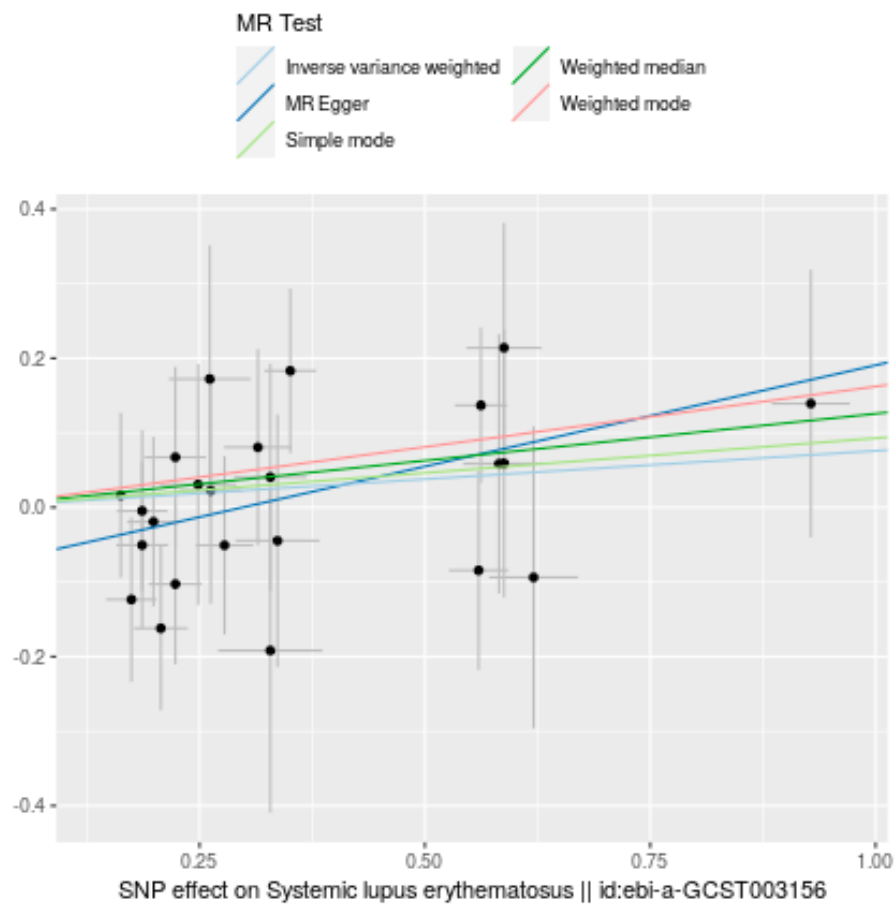


Figura 5: Resultados dos testes de randomização mendeliana, na forma de regressão.



*Tabela 3: Estimativas da randomização mendeliana de cada método do efeito causal da exposição (lúpus eritematoso sistêmico) sobre o desfecho (doença periodontal).*

| <b>MÉTODO</b>                      | <b>Nº SNP</b> | <b>B</b>  | <b>Se</b> | <b>pval</b> |
|------------------------------------|---------------|-----------|-----------|-------------|
| <b>MR EGGER</b>                    | 24            | 0.2713824 | 0.1572320 | 0.0983668   |
| <b>MEDIANA PONDERADA</b>           | 24            | 0.1256467 | 0.1917806 | 0.2170222   |
| <b>VARIÂNCIA INVERSA PONDERADA</b> | 24            | 0.0759006 | 0.0742134 | 0.3064338   |
| <b>MODO PONDERADO</b>              | 23            | 0.1621385 | 0.1240410 | 0.2040843   |

B: Beta; Se: Desvio padrão; pval: valor do teste da hipótese nula

*Tabela 4: Resultados do teste de heterogeneidade calculado usando o método MR Egger e Variância inversa ponderada para Lupus Eritematoso Sistêmico versus Doença periodontal*

| <b>Método</b>               | <b>Q</b> | <b>Q_df</b> | <b>Q_pval</b> |
|-----------------------------|----------|-------------|---------------|
| MR Egger                    | 11.8916  | 22          | 0.9595774     |
| Variância inversa ponderada | 13.8804  | 23          | 0.9302451     |

Q: Teste de heterogeneidade

*Tabela 5: A interceptação da regressão de Egger é uma estimativa da magnitude da pleiotropia horizontal, entre os SNP associados ao Lúpus eritematoso sistêmico e doença periodontal.*

|                                       |
|---------------------------------------|
| Interceptação de regressão de Egger   |
| 0.017                                 |
| Erro padrão                           |
| 0.011                                 |
| p-value:                              |
| 0.172                                 |
| pval: valor do teste da hipótese nula |

#### 4.2 Análise de interação proteína-proteína

Na análise preliminar da rede de interação de proteínas foram usados as proteínas relacionadas com a Lupus eritematoso sistêmico e com a doença periodontal usando a ferramenta online STRING, foram encontrados 29 nós com 30 relacionamentos PPI (Tabela 6). Na figura 6 temos o resultado da análise preliminar e na figura 7 temos o resultado da análise da rede de interação proteica.

As propriedades da rede foram analisadas, indicando que a rede de interação proteína-proteína teve mais interações entre si do que o que seria esperado para um conjunto aleatório de proteínas de tamanho semelhante. Tal enriquecimento indica que as proteínas são, pelo menos parcialmente, biologicamente associadas (valor  $p = 4.85 \times 10^{-13}$ ). De um número esperado de 6 arestas, foi lançado um número final de 30 arestas (grau médio do nó = 2.07; coeficiente de agrupamento local médio = 0.691). A sensibilidade da análise com um corte de confiança de 0.7 revelou que os resultados não dependem da escolha do corte de confiança, uma vez que surgiu a mesma rede.

*Tabela 6: Resultados da pontuação entre o lúpus eritematoso sistêmico com as proteínas relacionadas à doença periodontal identificadas na interação da rede.*

| <b>Proteínas para Lúpus eritematoso sistêmico</b> | <b>Proteínas para doença periodontal</b> | <b>Resultado</b> |
|---|--|------------------|
| PLAUR   | PLG                                      | 0.999            |
| PSMB6   | PSMA8                                    | 0.999            |
| ATXN2   | RBFOX1                                   | 0.993            |
| PLAUR   | IGF2R                                    | 0.983            |
| UBE2L3  | SMURF2                                   | 0.957            |
| EVI5  | BIRC5                                    | 0.953            |
| IL10  | LBP                                      | 0.944            |
| ITGAM   | PLG                                      | 0.938            |
| GRB2  | FCER1G                                   | 0.932            |
| MECP2   | RBFOX1                                   | 0.925            |
| FCGR2A  | FCER1G                                   | 0.918            |
| GRB2  | ANGPT1                                   | 0.915            |
| CSK   | ACTN2                                    | 0.914            |
| CSK   | ACTN1                                    | 0.913            |
| NCOA2   | ABCA1                                    | 0.909            |
| PLD2  | ANGPT1                                   | 0.900            |
| PLD2  | FCER1G                                   | 0.900            |
| CTLA4   | ITGA8                                    | 0.900            |
| SPRED2  | PSMA8                                    | 0.900            |
| PSMB6   | RUNX2                                    | 0.900            |

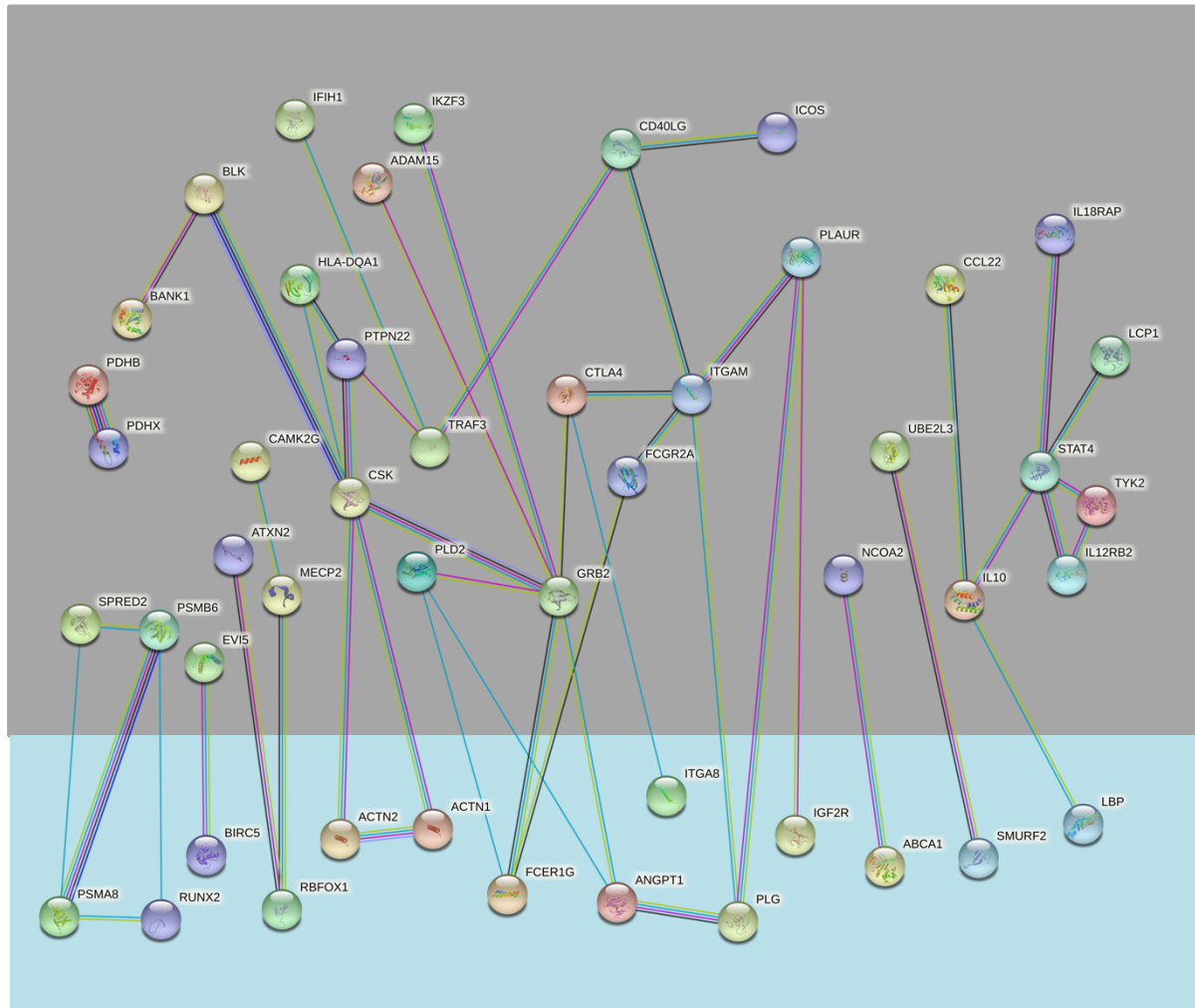
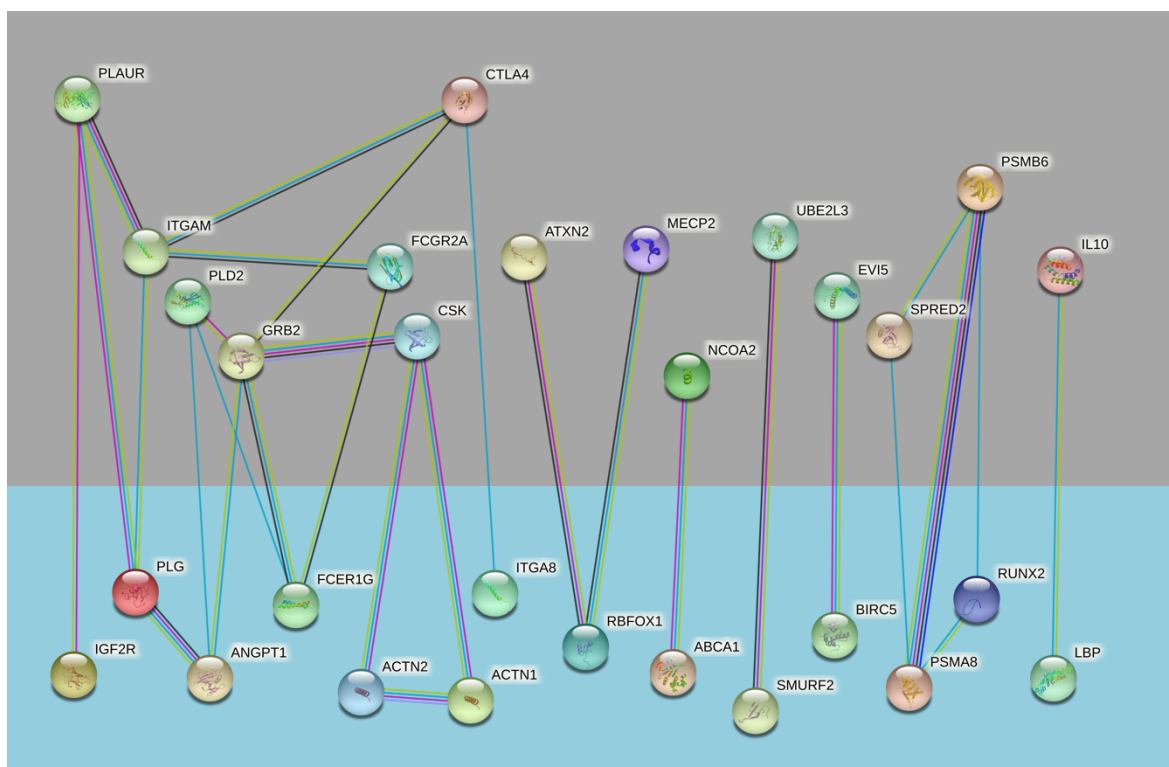


Figura 6: A análise da ferramenta de pesquisa para recuperação de genes / proteínas em interação (STRING) revela redes de interação de proteínas entre o lúpus eritematoso sistêmico e as proteínas da doença periodontal. Implementamos o maior corte de confiança de 0,9 nesta rede. Na rede de associação de proteínas resultante, as proteínas são apresentadas como nós que são conectados por linhas cuja espessura representa o nível de confiança (0,9).



*Figura 7: Rede de interação de proteínas mostrando as interações encontradas entre as proteínas do lúpus eritematoso sistêmico e da doença periodontal.*



## 5- DISCUSSÃO

### 5.1 Correlação entre doença periodontal e lúpus eritematoso sistêmico

Neste estudo bioinformático, analisamos a relação entre lúpus eritematoso sistêmico e doença periodontal através de randomização mendeliana e previmos uma rede potencial PPI entre Lúpus eritematoso sistêmico e doença periodontal da base de dados de estudos de associação de todo o genoma humano, usando uma abordagem de bioinformática. Embora essas redes de interação proteína-proteína necessitem de uma validação experimental adicional, eles revelam novas pistas para estudos posteriores e permitem propor vias adicionais de interação entre essas duas condições.

Os SNPs usados nessa randomização mendeliana respeitaram o princípio da pleiotropia horizontal ( $p = 0.172$ ), um dos princípios fundamentais para se proceder com randomização mendeliana (Bowden & Holmes, 2019; Burgess & Thompson, 2015; Goto et al., 2020; Trajanoska & Rivadeneira, 2018; VanderWeele et al., 2014).

Os dados de randomização mendeliana não demonstraram relação estatisticamente significativa entre doença periodontal e lúpus eritematoso sistêmico, MR Egger ( $p=0.098$ ), Mediana ponderada ( $p=0.217$ ), Variância inversa ponderada ( $p=0.306$ ) e modo ponderado ( $p=0.204$ ), com a heterogeneidade baixa (MR Egger  $Q = 46,51$   $p=0.493$ ).

### 5.2 Interação proteica entre doença periodontal e lúpus eritematoso sistêmico

Na rede de interação proteica foi identificado uma interação entre RUNX2 fator de transcrição envolvido na diferenciação osteoblástica e morfogênese esquelética. Essencial para a maturação de osteoblastos e ossificação intramembranosa e endocondral, com PSMB6 Subunidade beta do proteossoma tipo 6; Componente do complexo proteossoma do núcleo 20S envolvido na degradação proteolítica da maioria das proteínas intracelulares. Este complexo desempenha vários papéis essenciais dentro da célula, associando-se a diferentes partículas regulatórias. Associado a duas partículas reguladoras 19S, forma o proteossoma 26S e, portanto, participa da degradação dependente de ATP de proteínas ubiquitinadas. O proteossoma 26S desempenha um papel

fundamental na manutenção da homeostase das proteínas, removendo proteínas mal dobradas ou danificadas que podem prejudicar as funções celulares (O'hurley et al., 2010).

As proteínas IGF2R e PLG apresentaram interação com PLAUR, enquanto ANGPT1 teve interação com GRB2 e PLD2.

A interação entre as proteínas PLAUR (um receptor de superfície do ativador de plasminogênio da uroquinase; que atua como um receptor para o ativador do plasminogênio uroquinase e desempenha um papel na localização e promoção da formação de plasmina) e as proteínas plasminogenio (Roldan et al., 1990a) e IGF2R (Receptor de manose-6-fosfato independente de catião) (Morgan et al., 1987; Roldan et al., 1990b) mostra que essa via pode ser uma via comum entre o lúpus eritematoso sistêmico e a doença periodontal, ambas as interações (PLAUR X PLG e PLAUR X IGF2R) apresentaram pontuação alta na análise da rede de interação, 0.999 e 0.983 respectivamente.

A proteína ANGPT1, presente na doença periodontal, desempenha um papel importante na regulação da angiogénese, sobrevivência das células endoteliais, proliferação, migração, adesão e disseminação celular, reorganização do citoesqueleto de actina, mas também manutenção da quiescência vascular (Davis et al., 1996), essa proteína tem uma importante relação com as proteínas GRB2 (proteínas que ligadas ao receptor do fator de crescimento, fornecem uma ligação crítica entre os receptores do fator de crescimento da superfície celular e a via de sinalização Ras) (Lowenstein et al., 1992) e PLD2 uma proteína associada a regulação do cito esqueleto, ambas as proteínas presentes no lúpus eritematoso sistêmico (Steed et al., 1998). Isso sugere que pode existir uma relação entre a doença periodontal e o lúpus eritematoso sistêmico e que essa também pode ser uma via a ser explorada como alvo para potenciais fármacos ou terapias.

### **5.3 Limitações e perspectivas futuras**

Existem algumas limitações potenciais a serem mencionadas. Em primeiro lugar, o número de genes representados em GWAS é sempre dependente do número disponível de estudos GWAS, na ocorrência de aumento nos conjuntos de dados GWAS acabará por revelar novos caminhos de interação e desconsiderar os anteriores. A pesquisa de GWAS



revolucionou o campo da genética das doenças complexas e foi bem-sucedida na identificação de novas associações.



## **6- CONCLUSÃO**

A randomização mendeliana demonstrou que pode existir uma associação fraca entre o lúpus eritematoso sistêmico e a doença periodontal, contudo, de momento sem suporte estatístico. É desejável que se façam mais estudos para se poder obter resultados mais robustos relativos a uma associação entre essas condições.

A análise da rede de interação demonstrou haver proteínas de ambas as condições que interagem, interação essa superior ao que seria esperado. Essas proteínas devem ser alvo de mais estudos a fim de ser possível avaliar melhor a relação entre a doença periodontal e o lúpus eritematoso sistêmico.



## 7- BIBLIOGRAFIA

Abrão, A. L. P., Santana, C. M., Bezerra, A. C. B., Amorim, R. F. B. de, Silva, M. B. da, Mota, L. M. H. da, Falcão, D. P., de Amorim, R. F. B., da Silva, M. B., da Mota, L. M. H., & Falcão, D. P. (2016). O que o reumatologista deve saber sobre as manifestações orofaciais das doenças reumáticas autoimunes. *Revista Brasileira de Reumatologia*, 56(5), 441–450. <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2015.08.011>

Aurlene, N., Manipal, S., Prabu, D., & Rajmohan. (2020). Prevalence of oral mucosal lesions, dental caries, and periodontal disease among patients with systemic lupus erythematosus in a teaching hospital in Chennai, Tamil Nadu. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9(7), 3374–3380. [https://doi.org/10.4103/jfmprc.jfmprc\\_1263\\_19](https://doi.org/10.4103/jfmprc.jfmprc_1263_19)

Bansal, T., Pandey, A., D, D., & Asthana, A. K. (2014). C-Reactive Protein (CRP) and its Association with Periodontal Disease: A Brief Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 8(7), ZE21-4. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8355.4646>

Bentham, J., Morris, D. L., Cunninghame Graham, D. S., Pinder, C. L., Tomblason, P., Behrens, T. W., Martín, J., Fairfax, B. P., Knight, J. C., Chen, L., Replogle, J., Syvänen, A. C., Rönblom, L., Graham, R. R., Wither, J. E., Rioux, J. D., Alarcón-Riquelme, M. E., & Vyse, T. J. (2015). Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 47(12), 1457–1464. <https://doi.org/10.1038/ng.3434>

Bowden, J., & Holmes, M. V. (2019). Meta - analysis and Mendelian randomization: A review. *Research Synthesis Methods*, 10, 486–496. <https://doi.org/10.1002/jrsm.1346>

Burgess, S., & Thompson, S. G. (2015). Multivariable Mendelian randomization: The use of pleiotropic genetic variants to estimate causal effects. *American Journal of Epidemiology*, 181(4), 251–260. <https://doi.org/10.1093/aje/kwu283>

Calderaro, D. C., Ferreira, G. A., Corrêa, J. D., Mendonça, S. M. S., Silva, T. A., Costa, F. O., & Lúcio Teixeira, A. (2017). Is chronic periodontitis premature in systemic lupus erythematosus patients? *Clinical Rheumatology*, 36(3), 713–718. <https://doi.org/10.1007/s10067-016-3385-8>

Cervino, A. C. L., Tsinoremas, N. F., & Hoffman, R. W. (2007). A genome-wide study of lupus: Preliminary analysis and data release. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1110, 131–139. <https://doi.org/10.1196/annals.1423.015>

Davies, N. M., Holmes, M. v., & Davey Smith, G. (2018). Reading Mendelian randomisation studies: A guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ (Online)*, 362. <https://doi.org/10.1136/bmj.k601>

Davis, S., Aldrich, T. H., & Jones, P. F. (1996). Isolation of Angiopoietin-1, a Ligand for the TIE2 Receptor, by Secretion-Trap Expression Cloning. In *Cell* (Vol. 87).

Ebersole, J. L., & Cappelli, D. (2000). Acute-phase reactants in infections and inflammatory diseases. *Periodontology* 2000, 23(1), 19–49. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2230103.x>

Elsworth, B., Lyon, M., Alexander, T., Liu, Y., Matthews, P., Hallett, J., Bates, P., Palmer, T., Haberland, V., Smith, G. D., Zheng, J., Haycock, P., Gaunt, T. R., & Hemani, G. (2020). The MRC IEU OpenGWAS data infrastructure. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.244293>

Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology* 2000, 62, 59–94.

Goto, A., Yamaji, T., Sawada, N., Momozawa, Y., Kamatani, Y., Kubo, M., & Shimazu, T. (2020). Diabetes and cancer risk : A Mendelian randomization study. *International Journal of Cancer*, 146, 712–719. <https://doi.org/10.1002/ijc.32310>

Goulielmos, G. N., Zervou, M. I., Vazgiourakis, V. M., Ghodke-Puranik, Y., Garyfallos, A., & Niewold, T. B. (2018). The genetics and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) in populations of different ancestry. In *Gene* (Vol. 668, pp. 59–72). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.041>

- Gualtierotti, R., Marzano, A. V., Spadari, F., & Cugno, M. (2018). Main Oral Manifestations in Immune-Mediated and Inflammatory Rheumatic Diseases. *Journal of Clinical Medicine*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/jcm8010021>
- Hammoudeh, M., Al-Momani, A., Sarakbi, H., Chandra, P., & Hammoudeh, S. (2018). Oral Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus Patients in Qatar: A Pilot Study. *International Journal of Rheumatology*, 2018, 6052326. <https://doi.org/10.1155/2018/6052326>
- Hemani, G., Zheng, J., Elsworth, B., Wade, K. H., Haberland, V., Baird, D., Laurin, C., Burgess, S., Bowden, J., Langdon, R., Tan, V. Y., Yarmolinsky, J., Shihab, H. A., Timpson, N. J., Evans, D. M., Relton, C., Martin, R. M., Davey Smith, G., Gaunt, T. R., & Haycock, P. C. (2018). *The MR-Base platform supports systematic causal inference across the human phenome*. <https://doi.org/10.7554/eLife.34408.001>
- Hom, G., Graham, R. R., Modrek, B., Taylor, K. E., Ortmann, W., Garnier, S., Lee, A. T., Chung, S. A., Ferreira, R. C., Pant, K., Ballinger, D. G., Kosoy, R., Demirci, F. Y., Kamboh, M. I., Kao, A. H., & Chao Tian, B.S., Iva Gunnarsson, Anders A. Bengtsson, Solbritt Rantapää-Dahlqvist, Michelle Petri, Susan Manzi, M.P.H., Michael F. Seldin, Lars Rönnblom, Ann-Christine Syvänen, P. A. (2008). Association of systemic lupus erythematosus with C8orf13–BLK and ITGAM–ITGAX. *The New England Journal of Medicine*, 358(9), 900–909. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2015.2249>
- Julià, A., López-Longo, F. J., Pérez Venegas, J. J., Bonàs-Guarch, S., Olivé, À., Andreu, J. L., Aguirre-Zamorano, M. Á., Vela, P., Nolla, J. M., de la Fuente, J. L. M., Zea, A., Pego-Reigosa, J. M., Freire, M., Díez, E., Rodríguez-Almaraz, E., Carreira, P., Blanco, R., Taboada, V. M., López-Lasanta, M., ... Fernández-Nebro, A. (2018). Genome-wide association study meta-analysis identifies five new loci for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research and Therapy*, 20(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1604-1>
- Langefeld, C. D., Ainsworth, H. C., Graham, D. S. C., Kelly, J. A., Comeau, M. E., Marion, M. C., Howard, T. D., Ramos, P. S., Croker, J. A., Morris, D. L., Sandling, J. K., Almlöf, J. C., Acevedo-Vásquez, E. M., Alarcón, G. S., Babini, A. M., Baca, V., Bengtsson, A. A., Berbotto, G. A., Bijl, M., ... Vyse, T. J. (2017). Transancestral

mapping and genetic load in systemic lupus erythematosus. *Nature Communications*, 8(May). <https://doi.org/10.1038/ncomms16021>

LEVINE, J. S., BRANCH, W., & RAUCH, J. (2002). THE ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME. *The New England Journal of Medicine*, 346(10), 752–763.

Lowenstein, E. J., Daly, R. J., Batzer, " A G, Li, W., Margolis, L. 6, Lammers, ' R, Ullrich, A., Skolnik, E. Y., Bar-Sagi, ' D, & Schlessinger', J. (1992). The SH2 and SH3 Domain-Containing Protein GRB2 Links Receptor Tyrosine Kinases to ras Signaling. In *Cell* (Vol. 70).

Marazita, M. L., Burmeister, J. A., Gunsolley, J. C., Koertge, T. E., Lake, K., & Schenkeln, H. A. (1994). Evidence for Autosomal Dominant Inheritance and Race-Specific Heterogeneity in Early-Onset Periodontitis. *Journal Periodontology*, 65, 623–630.

Marques, C. P. C., Maor, Y., de Andrade, M. S., Rodrigues, V. P., & Benatti, B. B. (2016). Possible evidence of systemic lupus erythematosus and periodontal disease association mediated by Toll-like receptors 2 and 4. *Clinical and Experimental Immunology*, 183(2), 187–192. <https://doi.org/10.1111/cei.12708>

Morgan, D. O., Edman, J. C., Standring, D. N., Fried, V. A., Smith, M. C., Roth, R. A., & Rutter, W. J. (1987). Insulin-like growth factor II receptor as a multifunctional binding protein. *Nature*, 329, 301–307.

Mutlu, S., Richards, A., Maddison, P., & Scully, C. (1993). Gingival and periodontal health in systemic lupus erythematosus. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 21(3), 158–161. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.1993.tb00742.x>

Novo, E., Garcia-MacGregor, E., Viera, N., Chaparro, N., & Crozzoli, Y. (1999). Periodontitis and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: a comparative study. *Journal of Periodontology*, 70(2), 185–188. <https://doi.org/10.1902/jop.1999.70.2.185>

Offenbacher, S., Divaris, K., Barros, S. P., Moss, K. L., Marchesan, J. T., Morelli, T., Zhang, S., Kim, S., Sun, L., Beck, J. D., Laudes, M., Munz, M., Schaefer, A. S., & North, K. E. (2016). Genome-wide association study of biologically informed



periodontal complex traits offers novel insights into the genetic basis of periodontal disease. *Human Molecular Genetics*, 25(10), 2113–2129. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw069>

O'hurley, G., O'grady, A., Smyth, P., Byrne, J., O'leary, J. J., Sheils, O., William, R., Watson, G., & Kay, E. W. (2010). Evaluation of Zinc-a-2-Glycoprotein and Proteasome Subunit b-Type 6 Expression in Prostate Cancer Using Tissue Microarray Technology. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 18(6), 512–517. [www.appliedimmunohist.com](http://www.appliedimmunohist.com)

Roldan, A. L., Cubellis, M. v., Masucci, M. T., Behrendt, N., Lund, L. R., Dano, K., Appella, E., & Blasi, F. (1990a). Cloning and expression of the receptor for human urokinase plasminogen activator, a central molecule in cell surface, plasmin dependent proteolysis. *EMBO Journal*, 9(2), 467–474. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1990.tb08132.x>

Schenkein, H. A., Berry, C. R., Burmeister, J. A., Brooks, C. N., Barbour, S. E., Best, A. M., & Tew, J. G. (2003). Anti-cardiolipin antibodies in sera from patients with periodontitis. *Journal of Dental Research*, 82(11), 919–922. <https://doi.org/10.1177/154405910308201114>

Schenkein, H. A., Best, A. M., Brooks, C. N., Burmeister, J. A., Arrowood, J. A., Kontos, M. C., & Tew, J. G. (2007). Anti-cardiolipin and increased serum adhesion molecule levels in patients with aggressive periodontitis. *Journal of Periodontology*, 78(3), 459–466. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060305>

Schnabel, A., Csernok, E., Isenberg, D. A., Mrowka, C., & Gross, W. L. (1995). ANTINEUTROPHIL CYTOPLASMIC ANTIBODIES IN Prevalence , Specificities , and Clinical Significance. *Arthritis Rheumatism*, 38(5), 63–637.

Shearer, D. M., Thomson, W. M., Caspi, A., Moffitt, T. E., Broadbent, J. M., & Poulton, R. (2011). Inter-generational continuity in periodontal health: Findings from the Dunedin family history study. *Journal of Clinical Periodontology*, 38(4), 301–309. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01704.x>

- Stabholz, A., Soskolne, W. A., & Shapira, L. (2010). Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000, 53, 138–153.
- Steed, P. M., Clark, K. L., Boyar, W. C., & Lasala, D. J. (1998). Characterization of human PLD2 and the analysis of PLD isoform splice variants. *FaseB*, 12, 1309–1317.
- Stein, J. M., MacHulla, H. K. G., Smeets, R., Lampert, F., & Reichert, S. (2008). Human leukocyte antigen polymorphism in chronic and aggressive periodontitis among Caucasians: A meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(3), 183–192. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01189.x>
- Trajanoska, K., & Rivadeneira, F. (2018). Using Mendelian Randomization to Decipher Mechanisms of Bone Disease. *Current Osteoporosis Reports*, 16(5), 531–540. <https://doi.org/10.1007/s11914-018-0467-3>
- VanderWeele, T. J., Tchetgen Tchetgen, E. J., Cornelis, M., & Kraft, P. (2014). Methodological challenges in Mendelian randomization. *Epidemiology*, 25(3), 427–435. <https://doi.org/10.1097/EDE.0000000000000081>
- Vogel, R. I. (1981). Periodontal disease associated with amegakaryocytic thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus. *Journal of Periodontology*, 52(1), 20–23. <https://doi.org/10.1902/jop.1981.52.1.20>
- Wang, Y. F., Zhang, Y., Lin, Z., Zhang, H., Wang, T. Y., Cao, Y., Morris, D. L., Sheng, Y., Yin, X., Zhong, S. L., Gu, X., Lei, Y., He, J., Wu, Q., Shen, J. J., Yang, J., Lam, T. H., Lin, J. H., Mai, Z. M., ... Yang, W. (2021). Identification of 38 novel loci for systemic lupus erythematosus and genetic heterogeneity between ancestral groups. *Nature Communications*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21049-y>
- Yamazaki, K., Tabeta, K., Nakajima, T., Ohsawa, Y., Ueki, K., Itoh, H., & Yoshie, H. (2001). Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Japanese patients with adult and early-onset periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(9), 828–832. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2001.028009828.x>





## 8- ANEXOS

Anexo I: SNPs associados a doença periodontal, usados na randomização mendeliana, bem como os genes mapeados usados na análise de interação de proteínas.

|    | SNP          | p-value             | OR | CI          | Gene mapeado        | Característica          | ID estudo |
|----|--------------|---------------------|----|-------------|---------------------|-------------------------|-----------|
| 1  | rs1156327-?  | $3 \times 10^{-10}$ | -  | [1-1.9]     | LINC02858           | periodontal measurement | 26962152  |
| 2  | rs3811273-?  | $2 \times 10^{-9}$  | -  | [0.83-1.61] | TRAV36DV7<br>TRAV37 | periodontal measurement | 26962152  |
| 3  | rs17184007-? | $7 \times 10^{-9}$  | -  | [0.9-1.8]   | GGTA2P<br>RAB11AP2  | periodontal measurement | 26962152  |
| 4  | rs1633266-?  | $3 \times 10^{-8}$  | -  | [0.6-1.26]  | IFI16               | periodontal measurement | 26962152  |
| 5  | rs17718700-? | $5 \times 10^{-8}$  | -  | [0.79-1.65] | RBMS3               | periodontal measurement | 26962152  |
| 6  | rs9557237-?  | $1 \times 10^{-8}$  | -  | [0.86-1.8]  | TM9SF2              | periodontal measurement | 26962152  |
| 7  | rs4074082-?  | $2 \times 10^{-8}$  | -  | [0.35-0.75] | C1QTNF7-AS1         | periodontal measurement | 26962152  |
| 8  | rs9772881-?  | $3 \times 10^{-8}$  | -  | [0.3-0.62]  | MIR1302-7           | periodontal measurement | 26962152  |
| 9  | rs10232172-? | $2 \times 10^{-8}$  | -  | [0.29-0.61] | NXPH1               | periodontal measurement | 26962152  |
| 10 | rs7135417-?  | $1 \times 10^{-9}$  | -  | [0.3-0.58]  | LINC02411           | periodontal measurement | 26962152  |
| 11 | rs904310-?   | $4 \times 10^{-8}$  | -  | [0.25-0.53] | SNRPN               | periodontal measurement | 26962152  |
| 12 | rs6488099-?  | $1 \times 10^{-8}$  | -  | [0.19-0.39] | PKP2                | periodontal measurement | 26962152  |

Anexo II: SNPs associados ao Lúpus eritematoso sistêmico usados na randomização mendeliana, bem como os genes mapeados usados na análise de interação de proteínas.

|    | SNP           | p-value            | OR                | CI          | Gene mapeado            | Característica               | ID estudo  |
|----|---------------|--------------------|-------------------|-------------|-------------------------|------------------------------|------------|
| 1  | rs1780813-?   | $4 \times 10^{-8}$ | 1.81<br>8181<br>8 | [1.27-3.23] | SMYD3                   | systemic lupus erythematosus | GCST005831 |
| 2  | rs55849330-A  | $5 \times 10^{-8}$ | 1.16              | [1.11-1.21] | ST8SIA4                 | systemic lupus erythematosus | GCST005831 |
| 3  | rs150518861-A | $4 \times 10^{-8}$ | 1.66              | [1.49-1.84] | EIF4H,<br>LIMK1         | systemic lupus erythematosus | GCST005831 |
| 4  | rs114038709-T | $4 \times 10^{-8}$ | 1.16              | [1.11-1.22] | AC003070.2,<br>ARHGAP27 | systemic lupus erythematosus | GCST005831 |
| 5  | rs36023980-C  | $5 \times 10^{-9}$ | 1.18              | [1.13-1.24] | AC011933.4<br>GRB2      | systemic lupus erythematosus | GCST005831 |
| 6  | rs1131265-?   | $1 \times 10^{-9}$ | 1.23<br>4567<br>9 | [1.15-1.32] | TIMMDC1                 | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |
| 7  | rs115268109-? | $2 \times 10^{-7}$ | 1.31              | [1.18-1.45] | -                       | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |
| 8  | rs1170436-?   | $9 \times 10^{-7}$ | 1.17              | [1.10-1.25] | ZFP90                   | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |
| 9  | rs10819689-?  | $9 \times 10^{-7}$ | 1.14<br>9425<br>3 | [1.09-1.20] | AL359710.1<br>STX17-AS1 | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |
| 10 | rs10905718-?  | $4 \times 10^{-6}$ | 1.12              | [1.07-1.17] | RBM17,<br>RPL32P23      | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |
| 11 | rs11578098-?  | $5 \times 10^{-7}$ | 1.13              | [1.08-1.19] | EVI5                    | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |
| 12 | rs11590283-?  | $1 \times 10^{-7}$ | 1.16<br>2790<br>7 | [1.10-1.22] | PUSL1                   | systemic lupus erythematosus | GCST007400 |

|    |              |                     |                   |                 |                          |                           |       |                |
|----|--------------|---------------------|-------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|-------|----------------|
| 13 | rs11681718-? | $1 \times 10^{-7}$  | 1.13<br>6363<br>6 | [1.09-<br>1.20] | AC007278.2,<br>IL18RAP   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 14 | rs11887156-? | $5 \times 10^{-7}$  | 1.19<br>0476<br>2 | [1.11-<br>1.28] | MGAT5                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 15 | rs12156002-? | $3 \times 10^{-7}$  | 1.14<br>9425<br>3 | [1.09-<br>1.22] | PVT1                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 16 | rs1966115-?  | $1 \times 10^{-7}$  | 1.14              | [1.09-<br>1.20] | AC068700.2               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 17 | rs2196171-?  | $5 \times 10^{-7}$  | 1.12<br>3595<br>5 | [1.08-<br>1.18] | PLCL1                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 18 | rs223883-?   | $2 \times 10^{-7}$  | 1.15              | [1.09-<br>1.21] | AC108081.1,<br>CCL22     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 19 | rs2327832-?  | $2 \times 10^{-13}$ | 1.22              | [1.15-<br>1.28] | BTF3L4P3,<br>AL356234.2  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 20 | rs2980512-?  | $4 \times 10^{-10}$ | 1.15              | [1.10-<br>1.20] | PRAG1,<br>FAM86B3P       | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 21 | rs35789010-? | $5 \times 10^{-19}$ | 1.46              | [1.35-<br>1.59] | CARMIL1                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 22 | rs36014129-? | $1 \times 10^{-24}$ | 1.5               | [1.39-<br>1.62] | H2AC3P,<br>H2BP5         | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 23 | rs41264285-? | $8 \times 10^{-7}$  | 1.14              | [1.08-<br>1.20] | ADAM15                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 24 | rs4690229-?  | $2 \times 10^{-8}$  | 1.13              | [1.09-<br>1.19] | DGKQ                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 25 | rs62149377-? | $9 \times 10^{-8}$  | 1.14              | [1.09-<br>1.19] | PAPOLG                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 26 | rs71567468-? | $9 \times 10^{-7}$  | 1.29              | [1.17-<br>1.43] | UHRF1BP1                 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 27 | rs77000060-? | $2 \times 10^{-29}$ | 1.89              | [1.69-<br>2.11] | LINC02528<br>AL591468.1  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 28 | rs7720046-?  | $3 \times 10^{-7}$  | 1.12<br>3595<br>5 | [1.08-<br>1.18] | LINC01845,<br>AC008691.1 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 29 | rs930297-?   | $1 \times 10^{-7}$  | 1.20<br>4819<br>3 | [1.12-<br>1.30] | RNU6-938P,<br>MIR3678    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 30 | rs12971295-? | $7 \times 10^{-7}$  | 1.13<br>6363<br>6 | [1.08-<br>1.19] | SSBP4,<br>LRRC25         | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 31 | rs2299864-?  | $6 \times 10^{-15}$ | 1.24              | [1.17-<br>1.30] | ATG5                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 32 | rs12706861-? | $4 \times 10^{-71}$ | 1.76              | [1.65-<br>1.87] | TNPO3                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 33 | rs7582694-?  | $4 \times 10^{-69}$ | 1.56              | [1.48-<br>1.64] | STAT4                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 34 | rs131658-?   | $1 \times 10^{-16}$ | 1.25              | [1.19-<br>1.32] | UBE2L3                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |
| 35 | rs3122605-?  | $1 \times 10^{-11}$ | 1.23              | [1.16-<br>1.30] | IL19                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400 |

|    |              |                     |                   |             |                      |                        |       |            |
|----|--------------|---------------------|-------------------|-------------|----------------------|------------------------|-------|------------|
| 36 | rs12129787-? | $1 \times 10^{-9}$  | 1.22              | [1.14-1.29] | AL590385.2, FCGR2A   | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 37 | rs11059927-? | $2 \times 10^{-8}$  | 1.21              | [1.13-1.30] | SLC15A4              | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 38 | rs4610334-?  | $4 \times 10^{-6}$  | 1.19              | [1.10-1.28] | SORCS2               | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 39 | rs2453042-?  | $7 \times 10^{-6}$  | 1.16              | [1.09-1.24] | NOTCH2               | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 40 | rs4859711-?  | $3 \times 10^{-6}$  | 1.16              | [1.09-1.24] | AC107072.2, SHROOM3  | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 41 | rs11227302-? | $3 \times 10^{-6}$  | 1.15              | [1.08-1.21] | OVOL1, AP5B1         | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 42 | rs10889681-? | $1 \times 10^{-6}$  | 1.15              | [1.09-1.21] | IL12RB2              | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 43 | rs7819602-?  | $1 \times 10^{-9}$  | 1.15              | [1.10-1.20] | AC011008.2, XKR6     | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 44 | rs9462027-?  | $2 \times 10^{-8}$  | 1.15              | [1.09-1.20] | UHRF1BP1             | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 45 | rs10245867-? | $4 \times 10^{-8}$  | 1.14              | [1.09-1.19] | JAZF1                | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 46 | rs2548279-?  | $2 \times 10^{-6}$  | 1.12              | [1.07-1.17] | ST8SIA4              | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 47 | rs1378942-?  | $5 \times 10^{-6}$  | 1.11              | [1.06-1.16] | CSK                  | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 48 | rs351758-?   | $4 \times 10^{-6}$  | 1.11              | [1.06-1.16] | ELP3                 | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 49 | rs2015407-?  | $6 \times 10^{-6}$  | 1.11              | [1.06-1.16] | TRAF3                | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 50 | rs4930194-?  | $4 \times 10^{-6}$  | 1.11<br>1111<br>2 | [1.06-1.16] | AP006288.1, SLC22A11 | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 51 | rs2732549-?  | $1 \times 10^{-6}$  | 1.11<br>1111<br>2 | [1.06-1.16] | AL356215.1, PDHX     | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 52 | rs6131014-?  | $1 \times 10^{-7}$  | 1.13<br>6363<br>6 | [1.09-1.19] | CD40, RPL13P2        | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 53 | rs10798176-? | $2 \times 10^{-6}$  | 1.14<br>9425<br>3 | [1.09-1.22] | FASLG, SLC25A38P1    | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 54 | rs916287-?   | $6 \times 10^{-6}$  | 1.16<br>2790<br>7 | [1.09-1.25] | ETV7                 | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 55 | rs7486855-?  | $3 \times 10^{-6}$  | 1.16<br>2790<br>7 | [1.09-1.23] | IFNG-AS1             | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 56 | rs2688608-?  | $7 \times 10^{-6}$  | 1.19<br>0476<br>2 | [1.11-1.3]  | PLAU, CAMK2G         | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |
| 57 | rs9652601-?  | $6 \times 10^{-13}$ | 1.19<br>0476<br>2 | [1.14-1.25] | CLEC16A              | systemic erythematosus | lupus | GCST007400 |

|    |               |                     |                   |                 |                      |                           |       |                  |
|----|---------------|---------------------|-------------------|-----------------|----------------------|---------------------------|-------|------------------|
| 58 | rs2431697-?   | $4 \times 10^{-14}$ | 1.19<br>0476<br>2 | [1.14-<br>1.23] | MIR3142HG            | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 59 | rs2663054-?   | $1 \times 10^{-8}$  | 1.20<br>4819<br>3 | [1.14-<br>1.28] | AC060234.3,<br>WDFY4 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 60 | rs11117431-?  | $6 \times 10^{-11}$ | 1.21<br>9512<br>2 | [1.15-<br>1.28] | AC092723.4           | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 61 | rs112006329-? | $1 \times 10^{-16}$ | 1.23<br>4567<br>9 | [1.18-1.3]      | CDHR5                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 62 | rs4426778-?   | $1 \times 10^{-12}$ | 1.26<br>5822<br>8 | [1.19-<br>1.35] | BANK1                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 63 | rs34725611-?  | $5 \times 10^{-23}$ | 1.28<br>2051<br>4 | [1.22-<br>1.35] | TYK2                 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 64 | rs147622113-? | $7 \times 10^{-6}$  | 1.36<br>9863      | [1.19-<br>1.56] | ILF3                 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 65 | B*57:01-?     | $4 \times 10^{-6}$  | 1.36<br>9863      | [1.19-<br>1.56] | -                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 66 | C*08:02-?     | $6 \times 10^{-6}$  | 1.35<br>1351<br>3 | [1.19-<br>1.56] | -                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 67 | DQB1*02:02-?  | $4 \times 10^{-7}$  | 1.23<br>4567<br>9 | [1.14-<br>1.33] | -                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 68 | DQB1*06:03-?  | $5 \times 10^{-6}$  | 1.28<br>2051<br>4 | [1.15-<br>1.43] | -                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 69 | B*27:05-?     | $3 \times 10^{-6}$  | 1.35<br>1351<br>3 | [1.19-<br>1.54] | -                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 70 | rs1143679-?   | $3 \times 10^{-62}$ | 1.72              | [1.61-<br>1.83] | ITGAM                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 71 | rs6679677-?   | $2 \times 10^{-23}$ | 1.41              | [1.32-<br>1.51] | PHTF1,<br>RSBN1      | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 72 | rs2736336-?   | $6 \times 10^{-32}$ | 1.34              | [1.28-<br>1.41] | AF131216.5,<br>BLK   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 73 | rs7249065-?   | $9 \times 10^{-6}$  | 1.3               | [1.16-<br>1.45] | SBNO2                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 74 | rs180977001-? | $2 \times 10^{-8}$  | 1.27              | [1.17-<br>1.39] | PXK,<br>AC098479.1   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 75 | rs12575600-?  | $6 \times 10^{-10}$ | 1.24              | [1.16-<br>1.33] | ETS1,<br>LINC02098   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 76 | C*05:01-?     | $9 \times 10^{-9}$  | 1.26<br>5822<br>8 | [1.16-<br>1.37] | -                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST007<br>400   |
| 77 | rs12093154-A  | $4 \times 10^{-6}$  | 0.84<br>4         | [0.77-<br>0.92] | C1QTNF12             | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 78 | rs28411034-A  | $6 \times 10^{-6}$  | 0.85<br>9         | [0.79-<br>0.92] | MTF1                 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |



|     |              |                     |           |             |                          |                           |       |                  |
|-----|--------------|---------------------|-----------|-------------|--------------------------|---------------------------|-------|------------------|
| 79  | rs1016140-T  | $3 \times 10^{-10}$ | 0.87      | [0.83-0.91] | CD58,<br>NAP1L4P1        | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 80  | rs11264750-G | $2 \times 10^{-12}$ | 0.75<br>1 | [0.67-0.83] | FCRL5                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 81  | rs12132445-A | $7 \times 10^{-8}$  | 1.17<br>1 | [1.11-1.23] | BX284613.2               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 82  | rs1547624-T  | $5 \times 10^{-8}$  | 1.17<br>2 | [1.12-1.23] | AL390957.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 83  | rs2381401-T  | $1 \times 10^{-7}$  | 1.17<br>9 | [1.12-1.24] | ARHGAP15                 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 84  | rs9630991-A  | $3 \times 10^{-6}$  | 0.85      | [0.78-0.92] | AC108047.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 85  | rs3087243-A  | $6 \times 10^{-6}$  | 0.87<br>9 | [0.82-0.94] | CTLA4,<br>ICOS           | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 86  | rs438613-C   | $6 \times 10^{-8}$  | 1.12<br>5 | [1.08-1.17] | LINC01967                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 87  | rs6927090-T  | $3 \times 10^{-10}$ | 1.23<br>3 | [1.17-1.3]  | AL035696.1<br>AL365272.1 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 88  | rs9387400-A  | $3 \times 10^{-8}$  | 0.74<br>3 | [0.64-0.85] | DSE                      | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 89  | rs13260060-A | $2 \times 10^{-8}$  | 0.88<br>9 | [0.85-0.93] | NCOA2                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 90  | rs2445610-G  | $5 \times 10^{-8}$  | 0.88<br>6 | [0.84-0.93] | CASC19<br>PCAT1          | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 91  | rs7815944-G  | $2 \times 10^{-9}$  | 0.86<br>2 | [0.81-0.91] | LINC00824                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 92  | rs4745876-A  | $1 \times 10^{-6}$  | 0.87<br>6 | [0.82-0.93] | AC024598.1<br>AC067752.1 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 93  | rs10999979-A | $1 \times 10^{-7}$  | 1.16<br>3 | [1.11-1.22] | CDH23                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 94  | rs7975703-T  | $1 \times 10^{-6}$  | 0.86<br>9 | [0.81-0.93] | CABP1                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 95  | rs76725306-A | $1 \times 10^{-6}$  | 1.15      | [1.09-1.21] | AL135901.1<br>RCBTB1     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 96  | rs1885889-G  | $8 \times 10^{-10}$ | 0.87      | [0.82-0.92] | TM9SF2<br>AL136961.1     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 97  | rs405858-T   | $2 \times 10^{-8}$  | 0.87<br>2 | [0.82-0.92] | ANKRD27                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 98  | rs3760667-T  | $1 \times 10^{-6}$  | 0.86<br>3 | [0.8-0.92]  | SLC6A16                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST900<br>11866 |
| 99  | rs1267499-A  | $8 \times 10^{-8}$  | 1.15      | [1.09-1.20] | AL138720.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |
| 100 | rs7090925-A  | $9 \times 10^{-8}$  | 1.13      | [1.08-1.18] | AC025946.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |
| 101 | rs9398235-A  | $1 \times 10^{-7}$  | 1.15      | [1.09-1.21] | DDO                      | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |
| 102 | rs1874791-A  | $3 \times 10^{-7}$  | 1.14      | [1.09-1.20] | IL12RB2                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |
| 103 | rs6914831-C  | $4 \times 10^{-7}$  | 1.11      | [1.07-1.16] | AHI1                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |
| 104 | rs912784-T   | $6 \times 10^{-7}$  | 1.29      | [1.17-1.42] | LCP1                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |
| 105 | rs494003-T   | $2 \times 10^{-6}$  | 1.13      | [1.08-1.19] | AP5B1                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155   |

|     |              |                      |      |             |                                  |                           |       |                |
|-----|--------------|----------------------|------|-------------|----------------------------------|---------------------------|-------|----------------|
| 106 | rs11908000-T | $2 \times 10^{-6}$   | 3.03 | [1.92–4.77] | RN7SL547P<br>MIR8062             | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 107 | rs959260-A   | $3 \times 10^{-6}$   | 1.14 | [1.08–1.20] | AC011933.2<br>AC011933.4<br>GRB2 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 108 | rs2288012-A  | $4 \times 10^{-6}$   | 1.12 | [1.07–1.17] | PRSS54                           | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 109 | rs9402743-G  | $5 \times 10^{-6}$   | 1.1  | [1.06–1.15] | LINC00271                        | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 110 | rs2476601-A  | $1 \times 10^{-28}$  | 1.43 | [1.34–1.53] | AL137856.1<br>PTPN22             | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 111 | rs1801274-C  | $1 \times 10^{-12}$  | 1.16 | [1.11–1.21] | FCGR2A                           | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 112 | rs704840-G   | $3 \times 10^{-19}$  | 1.22 | [1.17–1.27] | AL645568.3<br>TNFSF4             | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 113 | rs17849501-T | $3 \times 10^{-88}$  | 2.1  | [1.95–2.26] | NCF2<br>SMG7                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 114 | rs3024505-T  | $5 \times 10^{-9}$   | 1.17 | [1.11–1.24] | IL10<br>AL591846.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 115 | rs9782955-C  | $1 \times 10^{-9}$   | 1.16 | [1.11–1.22] | LYST                             | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 116 | rs2111485-G  | $1 \times 10^{-11}$  | 1.15 | [1.11–1.20] | IFIH1<br>FAP                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 117 | rs11889341-T | $6 \times 10^{-122}$ | 1.73 | (1.65–1.81] | STAT4                            | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 118 | rs3768792-C  | $1 \times 10^{-13}$  | 1.24 | [1.17–1.31] | IKZF2<br>AC093865.1              | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 119 | rs9311676-C  | $3 \times 10^{-14}$  | 1.17 | [1.13–1.22] | AC116036.2<br>PDHB               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 120 | rs564799-C   | $2 \times 10^{-9}$   | 1.14 | [1.09–1.18] | IL12A-AS1                        | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 121 | rs10028805-G | $4 \times 10^{-17}$  | 1.2  | [1.15–1.25] | BANK1                            | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 122 | rs7726414-T  | $4 \times 10^{-16}$  | 1.45 | [1.32–1.58] | AC008608.1<br>TCF7               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 123 | rs10036748-T | $1 \times 10^{-45}$  | 1.38 | [1.32–1.45] | TNIP1                            | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 124 | rs2431697-T  | $8 \times 10^{-28}$  | 1.26 | [1.21–1.31] | MIR3142HG                        | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 125 | rs1270942-C  | $2 \times 10^{-165}$ | 2.28 | [2.15–2.42] | AL645922.1<br>CFB                | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 126 | rs9462027-A  | $8 \times 10^{-9}$   | 1.14 | [1.09–1.19] | UHRF1BP1                         | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 127 | rs6568431-A  | $5 \times 10^{-14}$  | 1.21 | [1.15–1.27] | ATG5                             | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 128 | rs6932056-C  | $2 \times 10^{-31}$  | 1.83 | [1.65–2.02] | LINC02528<br>AL591468.1          | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 129 | rs849142-A   | $9 \times 10^{-11}$  | 1.14 | [1.10–1.19] | JAZF1                            | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 130 | rs4917014-T  | $6 \times 10^{-14}$  | 1.18 | [1.13–1.24] | AC020743.2<br>AC020743.3         | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 131 | rs10488631-C | $9 \times 10^{-110}$ | 1.92 | [1.81–2.03] | AC025594.2<br>TNPO3              | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |

|     |              |                     |      |             |                          |                           |       |                |
|-----|--------------|---------------------|------|-------------|--------------------------|---------------------------|-------|----------------|
| 132 | rs2736340-T  | $6 \times 10^{-20}$ | 1.29 | [1.22–1.37] | AF131216.5<br>BLK        | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 133 | rs2663052-C  | $5 \times 10^{-9}$  | 1.16 | [1.10–1.22] | WDFY4                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 134 | rs4948496-C  | $1 \times 10^{-10}$ | 1.14 | [1.10–1.19] | ARID5B                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 135 | rs12802200-C | $9 \times 10^{-10}$ | 1.23 | [1.15–1.31] | MIR210HG                 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 136 | rs2732549-T  | $1 \times 10^{-23}$ | 1.24 | [1.19–1.29] | AL356215.1<br>PDHX       | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 137 | rs3794060-C  | $1 \times 10^{-20}$ | 1.23 | [1.18–1.29] | NADSYN1                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 138 | rs7941765-C  | $1 \times 10^{-10}$ | 1.14 | [1.10–1.19] | AP001122.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 139 | rs10774625-A | $4 \times 10^{-9}$  | 1.13 | [1.08–1.18] | ATXN2                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 140 | rs1059312-C  | $1 \times 10^{-13}$ | 1.17 | [1.12–1.21] | SLC15A4                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 141 | rs4902562-A  | $6 \times 10^{-10}$ | 1.14 | [1.09–1.19] | RAD51B                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 142 | rs2289583-A  | $6 \times 10^{-15}$ | 1.19 | [1.14–1.24] | SCAMP5                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 143 | rs9652601-G  | $7 \times 10^{-17}$ | 1.21 | [1.15–1.26] | CLEC16A                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 144 | rs34572943-A | $3 \times 10^{-76}$ | 1.71 | [1.61–1.81] | ITGAM                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 145 | rs11644034-G | $1 \times 10^{-17}$ | 1.25 | [1.19–1.32] | AC092723.5               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 146 | rs2286672-T  | $3 \times 10^{-9}$  | 1.25 | [1.16–1.35] | PLD2                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 147 | rs2941509-A  | $8 \times 10^{-9}$  | 1.35 | [1.22–1.49] | IKZF3                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 148 | rs2304256-C  | $4 \times 10^{-13}$ | 1.24 | [1.17–1.31] | TYK2                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 149 | rs7444-C     | $2 \times 10^{-22}$ | 1.27 | [1.21–1.33] | UBE2L3                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 150 | rs887369-C   | $5 \times 10^{-10}$ | 1.15 | [1.10–1.21] | CXorf21                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 151 | rs1734787-C  | $2 \times 10^{-15}$ | 1.31 | [1.22–1.40] | MECP2                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>155 |
| 152 | rs4660116-C  | $2 \times 10^{-7}$  | 1.17 | [NR]        | LYST                     | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 153 | rs10995092-T | $2 \times 10^{-7}$  | 1.22 | [NR]        | RTKN2                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 154 | rs11185603-C | $4 \times 10^{-7}$  | 1.15 | [NR]        | AC020743.2<br>AC020743.3 | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 155 | rs11889341-T | $2 \times 10^{-76}$ | 1.68 | [NR]        | STAT4                    | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 156 | rs820077-G   | $1 \times 10^{-8}$  | 1.19 | [NR]        | ANKS1A                   | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 157 | rs7941765-C  | $2 \times 10^{-8}$  | 1.16 | [NR]        | AP001122.1               | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 158 | rs7200786-A  | $2 \times 10^{-8}$  | 1.15 | [NR]        | CLEC16A                  | systemic<br>erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |

|     |               |                      |      |      |                          |                        |       |                |
|-----|---------------|----------------------|------|------|--------------------------|------------------------|-------|----------------|
| 159 | rs12531540-C  | $3 \times 10^{-8}$   | 1.15 | [NR] | JAZF1                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 160 | rs1990760-T   | $4 \times 10^{-8}$   | 1.15 | [NR] | IFIH1                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 161 | rs3024493-A   | $6 \times 10^{-8}$   | 1.2  | [NR] | IL10                     | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 162 | rs2532871-C   | $7 \times 10^{-8}$   | 1.32 | [NR] | CXorf21<br>NR0B1         | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 163 | rs10516487-G  | $8 \times 10^{-8}$   | 1.16 | [NR] | BANK1                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 164 | rs143123127-A | $6 \times 10^{-9}$   | 1.51 | [NR] | IKZF3                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 165 | rs11059919-G  | $8 \times 10^{-9}$   | 1.16 | [NR] | SLC15A4                  | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 166 | rs114090659-C | $6 \times 10^{-92}$  | 1.99 | [NR] | NAPGP2<br>MUC21          | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 167 | rs114092478-T | $3 \times 10^{-93}$  | 2    | [NR] | MTCO3P1<br>AL662789.1    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 168 | rs268134-G    | $1 \times 10^{-10}$  | 1.21 | [NR] | SPRED2                   | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 169 | rs10048743-G  | $2 \times 10^{-10}$  | 1.25 | [NR] | IKZF2                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 170 | rs597808-A    | $6 \times 10^{-10}$  | 1.18 | [NR] | ATXN2                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 171 | rs2289583-A   | $6 \times 10^{-10}$  | 1.18 | [NR] | SCAMP5                   | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 172 | rs4388254-T   | $7 \times 10^{-10}$  | 1.4  | [NR] | TCF7<br>AC008608.1       | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 173 | rs1150757-A   | $6 \times 10^{-107}$ | 2.33 | [NR] | TNXB                     | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 174 | rs77583790-A  | $6 \times 10^{-11}$  | 2.15 | [NR] | IL12A-AS1                | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 175 | rs6671847-A   | $1 \times 10^{-12}$  | 1.2  | [NR] | FCGR2A                   | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 176 | rs74290525-G  | $1 \times 10^{-12}$  | 2.06 | [NR] | SLC44A4                  | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 177 | rs10753074-T  | $6 \times 10^{-12}$  | 1.21 | [NR] | AL645568.2<br>AL645568.1 | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 178 | rs7097397-G   | $9 \times 10^{-12}$  | 1.2  | [NR] | WDFY4                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 179 | rs11085727-C  | $1 \times 10^{-13}$  | 1.24 | [NR] | TYK2                     | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 180 | rs387619-C    | $3 \times 10^{-13}$  | 1.21 | [NR] | PDHX<br>AL356215.1       | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 181 | rs3747093-A   | $3 \times 10^{-13}$  | 1.26 | [NR] | CCDC116<br>YDJC          | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 182 | rs58688157-A  | $5 \times 10^{-13}$  | 1.24 | [NR] | CDHR5                    | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 183 | rs9273076-T   | $8 \times 10^{-13}$  | 1.3  | [NR] | HLA-DQA1                 | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 184 | rs6568431-A   | $5 \times 10^{-14}$  | 1.2  | [NR] | ATG5                     | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |
| 185 | rs6679677-A   | $1 \times 10^{-15}$  | 1.39 | [NR] | PHTF1<br>RSBN1           | systemic erythematosus | lupus | GCST003<br>156 |

|     |              |                     |      |      |                         |                              |             |
|-----|--------------|---------------------|------|------|-------------------------|------------------------------|-------------|
| 186 | rs6736175-C  | $9 \times 10^{-17}$ | 1.24 | [NR] | STAT4                   | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 187 | rs13332649-A | $2 \times 10^{-18}$ | 1.34 | [NR] | AC092723.5              | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 188 | rs2431098-G  | $4 \times 10^{-18}$ | 1.25 | [NR] | MIR3142HG               | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 189 | rs58721818-T | $3 \times 10^{-19}$ | 1.82 | [NR] | AL591468.1<br>LINC02528 | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 190 | rs10912578-A | $4 \times 10^{-19}$ | 1.27 | [NR] | TNFSF4<br>AL645568.3    | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 191 | rs2736332-C  | $2 \times 10^{-22}$ | 1.31 | [NR] | AF131216.5<br>BLK       | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 192 | rs6889239-C  | $4 \times 10^{-24}$ | 1.33 | [NR] | TNIP1                   | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 193 | rs3757387-C  | $1 \times 10^{-48}$ | 1.45 | [NR] | AC025594.1<br>IRF5      | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 194 | rs35472514-G | $4 \times 10^{-53}$ | 1.7  | [NR] | ITGAM                   | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 195 | rs17849501-T | $2 \times 10^{-59}$ | 2.01 | [NR] | NCF2<br>SMG7            | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 196 | rs4902562-A  | $2 \times 10^{-6}$  | 1.13 | [NR] | RAD51B                  | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 197 | rs79404002-A | $3 \times 10^{-6}$  | 1.29 | [NR] | PSMB6<br>GLTPD2         | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |
| 198 | rs35000415-T | $1 \times 10^{-60}$ | 1.83 | [NR] | IRF5                    | systemic lupus erythematosus | GCST003 156 |

### Anexo III: Comandos R executados no RMBase para execução da randomização mendeliana.

```
library(TwoSampleMR)

ao <- available_outcomes()

library(MRInstruments)

data(gwas_catalog)

gwas_catalog_subset <- subset(gwas_catalog, Phenotype %in% c('Systemic lupus erythematosus', 'Interferon alpha levels in systemic lupus erythematosus', 'Systemic seropositive rheumatic diseases (Systemic sclerosis or systemic lupus erythematosus or rheumatoid arthritis or idiopathic inflammatory myopathies)', 'Lupus nephritis in systemic lupus erythematosus', 'Childhood onset systemic lupus erythematosus') & SNP %in% c('rs10028805', 'rs10032909', 'rs10036748', 'rs10057690', 'rs10245867', 'rs10254284', 'rs1039917', 'rs10466455', 'rs10488631', 'rs1049564', 'rs10516487', 'rs1059312', 'rs10742326', 'rs10762171', 'rs10774625', 'rs10819689', 'rs10857635', 'rs10857712', 'rs10889681', 'rs10905718', 'rs10911363', 'rs10911628', 'rs10946940', 'rs10954214', 'rs11013210', 'rs11059927', 'rs11066301', 'rs11073328', 'rs11117431', 'rs11154801', 'rs112006329', 'rs112047269', 'rs11227302', 'rs11231824', 'rs1127745', 'rs1128334', 'rs112846137', 'rs1131265', 'rs1143679', 'rs1150754', 'rs1150755', 'rs11574637', 'rs11578098', 'rs11590283', 'rs11644034', 'rs11655550', 'rs1167796', 'rs11681718', 'rs11697848', 'rs1170426', 'rs1170436', 'rs11724582', 'rs11755393', 'rs117846724', 'rs11788118', 'rs11845506', 'rs11860650', 'rs11887156', 'rs11889341', 'rs11908000', 'rs1194', 'rs11951576', 'rs12129787', 'rs12156002', 'rs12444486', 'rs12531711', 'rs12537284', 'rs12539741', 'rs12574073', 'rs12575600', 'rs12620999', 'r
```

s12629106', 'rs12636784', 'rs12664535', 'rs1267499', 'rs12706861', 'rs1270942',  
 , 'rs12736195', 'rs12802200', 'rs12928725', 'rs12971295', 'rs12992463', 'rs129  
 93006', 'rs13101828', 'rs131654', 'rs131658', 'rs13238352', 'rs13277113', 'rs1  
 3306575', 'rs13344313', 'rs13385731', 'rs13389408', 'rs1364989', 'rs1378942',  
 'rs137956', 'rs1385374', 'rs1429411', 'rs1432296', 'rs1437466', 'rs147622113',  
 'rs150518861', 'rs1590381', 'rs17005500', 'rs17266594', 'rs17321999', 'rs17347  
 87', 'rs17484292', 'rs1749792', 'rs17552904', 'rs17603856', 'rs17630235', 'rs1  
 7807624', 'rs17849501', 'rs17849502', 'rs17881940', 'rs1801274', 'rs1804182',  
 'rs180977001', 'rs181502228', 'rs1861525', 'rs1874252', 'rs1874791', 'rs187818  
 6', 'rs1887428', 'rs190029011', 'rs1913517', 'rs193107685', 'rs1946007', 'rs19  
 66115', 'rs2015407', 'rs2041670', 'rs2041862', 'rs2061831', 'rs2070197', 'rs21  
 11485', 'rs212407', 'rs2187668', 'rs2205960', 'rs2230926', 'rs223883', 'rs2238  
 89', 'rs2269368', 'rs2286672', 'rs2288012', 'rs2289583', 'rs229541', 'rs229755  
 0', 'rs2299864', 'rs2301271', 'rs2304256', 'rs2327832', 'rs2422345', 'rs243109  
 8', 'rs2431099', 'rs2431697', 'rs2453042', 'rs2476601', 'rs2478118', 'rs254827  
 9', 'rs2550333', 'rs2618444', 'rs2647012', 'rs2663052', 'rs2669010', 'rs273176  
 3', 'rs2732549', 'rs2736336', 'rs2736337', 'rs2736340', 'rs274068', 'rs2764208  
 ', 'rs2786111', 'rs2797780', 'rs2928402', 'rs2941509', 'rs2953898', 'rs2955587  
 ', 'rs2980512', 'rs2984920', 'rs3024493', 'rs3024505', 'rs3122605', 'rs3130320  
 ', 'rs3131379', 'rs3135394', 'rs330048', 'rs332398', 'rs340630', 'rs34536443',  
 'rs34572943', 'rs34725611', 'rs34840245', 'rs34889541', 'rs35000415', 'rs35175  
 8', 'rs353592', 'rs35677470', 'rs35789010', 'rs36014129', 'rs36023980', 'rs373  
 3345', 'rs3750310', 'rs3757387', 'rs3768792', 'rs3794060', 'rs3828069', 'rs391  
 4167', 'rs3934007', 'rs41264285', 'rs4252665', 'rs428073', 'rs4355385', 'rs438  
 2707', 'rs4544377', 'rs4574684', 'rs4610334', 'rs461193', 'rs4637409', 'rs4639  
 966', 'rs4641121', 'rs4675354', 'rs4684256', 'rs4690229', 'rs4728142', 'rs4739  
 134', 'rs4748857', 'rs4766921', 'rs4810485', 'rs4859711', 'rs4901847', 'rs4902  
 562', 'rs4917014', 'rs4921230', 'rs494003', 'rs4948496', 'rs4956211', 'rs49588  
 80', 'rs4963128', 'rs497273', 'rs5029937', 'rs5029939', 'rs503425', 'rs548234',  
 'rs55849330', 'rs558702', 'rs56154925', 'rs564799', 'rs564976', 'rs56886418',  
 'rs5754217', 'rs5754467', 'rs586995', 'rs58721818', 'rs597325', 'rs601162',  
 'rs6049839', 'rs6084875', 'rs6131014', 'rs61732491', 'rs61839660', 'rs62149377  
 ', 'rs6438700', 'rs643955', 'rs6445975', 'rs6486730', 'rs653178', 'rs6538678',  
 'rs6568431', 'rs6590330', 'rs6601327', 'rs6662618', 'rs6677604', 'rs6679677',  
 'rs6681482', 'rs6688100', 'rs6738825', 'rs6762714', 'rs6869688', 'rs6886392',  
 'rs6914831', 'rs6920220', 'rs6932056', 'rs6945305', 'rs6946131', 'rs702814', 'rs  
 7031325', 'rs704840', 'rs7090925', 'rs7097397', 'rs7098187', 'rs71567468', 'rs  
 7186852', 'rs7197475', 'rs7249065', 'rs729302', 'rs7300146', 'rs73135369', 'rs  
 7329174', 'rs7333671', 'rs73366469', 'rs73846279', 'rs7411387', 'rs7444', 'rs  
 7460469', 'rs7486855', 'rs74936631', 'rs7568275', 'rs7574865', 'rs7579944', 'rs  
 7582694', 'rs76246107', 'rs7683537', 'rs77000060', 'rs7708392', 'rs7726414',  
 'rs7812879', 'rs7819602', 'rs7834765', 'rs7892586', 'rs7927370', 'rs7941765',  
 'rs8012283', 'rs8023715', 'rs8054198', 'rs8058578', 'rs8072449', 'rs8105429',  
 'rs835573', 'rs849142', 'rs887369', 'rs909788', 'rs911263', 'rs912784', 'rs916  
 287', 'rs918959', 'rs921916', 'rs9263871', 'rs9267972', 'rs9271366', 'rs927557  
 2', 'rs930297', 'rs931127', 'rs9311676', 'rs9373839', 'rs9394274', 'rs9398235',  
 'rs9402715', 'rs9402743', 'rs9462027', 'rs956237', 'rs959260', 'rs9652601',  
 'rs9782955', 'rs9852465', 'rs9888739', 'rs9889107', 'rs10041935'))

```
exposure_dat <- format_data(gwas_catalog_subset)
```

```
outcome_dat <- extract_outcome_data(exposure_dat$SNP, c('ebi-a-GCST003484','bb  
j-a-142'), proxies = 1, rsq = 0.8, align_alleles = 1, palindromes = 1, maf_thr  
eshold = 0.47)
```

```
dat <- harmonise_data(exposure_dat, outcome_dat, action = 3)
```

```
mr_results <- mr(dat)
```

## Anexo V, lista de Genes associados com a doença periodontal

|                  |                      |                  |
|------------------|----------------------|------------------|
| ERGIC1           | LINC02778            | ZNF579           |
| ERC2             | LINC02022            | ZFPM2            |
| EIF3LP1, RPL9P6  | LINC01933            | Y_RNA, PRDX1P1   |
| DLG2             | LINC01854            | WDR73, SCAND2P   |
| DKK1, RPL31P44   | LINC01854            | WDR36, RPS3AP21  |
| DEFA9P, DEFA10P  | LINC01811            | UTP14A, BCORL1   |
| DEFA10P, DEFA9P  | LINC01799, LINC01828 | UHRF2            |
| DEFA10P, DEFA9P  | LINC01700, RPSAP64   | TTLL11, DAB2IP   |
| DAOA-AS1         | LINC01278            | TTC6             |
| CSNK1G2          | LINC01262            | TIMP2, CEP295NL  |
| CSMD1            | LINC01239            | THSD4            |
| CSMD1            | LINC00907            | THSD4            |
| CRYBB2P1         | LINC00907            | THSD4            |
| CRACR2A          | LINC00208, GATA4     | TGIF1            |
| CNTN2, NFASC     | LINC00208, GATA4     | TENM2            |
| CELF2-DT, CUX2P1 | LINC00208, GATA4     | TBC1D1           |
| CDKL1            | LBP                  | SUMF1            |
| CDH2             | KDM4B                | ST20, ST20-MTHFS |
| CDH13            | KDM4B                | ST20-AS1, BCL2A1 |
| CCDC13           | KCNQ5                | SMURF2           |
| CAMTA1           | KCNK1                | SLC1A3           |
| CAMK4, RPS3AP21  | KCNK1                | SIGLEC5          |
| C5AR1            | KCNJ16               | SIGLEC5          |
| BIRC5            | JDP2, LINC01220      | SHISA9           |
| ARHGAP18, LAMA2  | ITGA8                | SCN2A            |
| ANTXR1           | IGLV4-60, ABHD17AP5  | RYSR3-DT         |
| ANGPT1           | IGF2R                | RUNX2            |
| ADGRE1           | ICE2P2               | RPL23AP54        |

|                      |                     |                |
|----------------------|---------------------|----------------|
| ACTN2                | HUNK                | ROCK1P1        |
| ACTN1                | HSP90AB2P           | ROBO2          |
| ABLIM2               | HSP90AB2P           | RNU6-675P      |
| ABCA1                | HS6ST2              | RNA5SP228      |
| MYH13                | HNRNPA1P58, NRSN1   | RN7SL97P       |
| MIR8052              | HMX3, ACADSB        | RGMA           |
| MIR8052              | HMGB1P5             | RBFOX1         |
| MIR3622B             | HLA-DOA             | RAPGEF3, ENDOU |
| MFSD1                | HAS2-AS1, LINC02855 | PWRN1, NPAP1   |
| MCM3AP               | GVINP1              | PWRN1          |
| MAPK6P2              | GRK5                | PTPRT          |
| LYPLA1P2, MIR297     | GRIK1               | PTEN, MED6P1   |
| LRP1B                | GRADE1              | PSMA8          |
| LINC02870, LINC01165 | GPR141, EPDR1       | PRB2           |
| EXTL2P1, LNPB        | GPN1                | PLG            |
| ETNK2                | GLT6D1              | PLEC, EPPK1    |
| NKAIN2               | GDF15               | PKN2-AS1       |
| NAMPTP1, Y_RNA       | FOXP4-AS1, NCR2     | PARP15         |
| FAM126A              | FIZ1                | OSTCP2         |
| NLGN1                | FHOD3               | OSBPL10        |
| NKAIN3               | FCER1G              | NUDT5          |
| NKAIN2               | FBXO38              | NPY            |
| FAM135B              | GORDURA3            | NPM1P2         |
| FAM166C, OTOF        | FAM180A             |                |